

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIA COGNITIVA E
COMPORTAMENTO

**EFEITO DA ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA POR CORRENTE CONTÍNUA
DE ALTA DEFINIÇÃO (HD-tDCS) E DO CONSUMO DE *Chlorella pyrenoidosa* (H.
CHICK) PARA TRATAMENTO ADJUVANTE DA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA
COM FRAÇÃO DE EJEÇÃO REDUZIDA**

VANESSA MEIRA CINTRA

JOÃO PESSOA, PB

2024

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIA COGNITIVA E
COMPORTAMENTO

EFEITO DA ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA POR CORRENTE CONTÍNUA DE
ALTA DEFINIÇÃO (HD-tDCS) E DO CONSUMO DE *Chlorella pyrenoidosa* (H. CHICK)
PARA TRATAMENTO ADJUVANTE DA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA COM FRAÇÃO
DE EJEÇÃO REDUZIDA

VANESSA MEIRA CINTRA

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em
Neurociência Cognitiva e Comportamento como
requisito para obtenção do Título de Doutora em
Neurociência Cognitiva e Comportamento.

Linha de pesquisa: Psicobiologia: Neurociência
Cognitiva Pré-clínica e Clínica

Projeto: Preditores Neurobiológicos de Resposta á
Neuromodulação Não-Invasiva

Orientadora: Prof. Dra. Suellen Mary Andrade
Marinho

Coorientadora: Prof. Dra. Jailane de Souza Aquino

JOÃO PESSOA, PB

2024

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIA COGNITIVA E
COMPORTAMENTO

EFEITO DA ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA POR CORRENTE CONTÍNUA DE ALTA DEFINIÇÃO (HD-tDCS) E DO CONSUMO DE *Chlorella pyrenoidosa* (H. CHICK) PARA TRATAMENTO ADJUVANTE DA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA COM FRAÇÃO DE EJEÇÃO REDUZIDA

Chefia de Departamento de Psicologia:

Profa. Dra. Miriane da Silva Santos Barbosa

Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Neurociências Cognitivas e Comportamento

Prof. Dra. Melyssa Kellyane Cavalcanti Galdino

JOÃO PESSOA, PB

2024

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

C575e Cintra, Vanessa Meira.

Efeito da estimulação transcraniana por corrente contínua de alta definição (HD-tDCS) e o consumo de *Chlorella pyrenoidosa* (H. Chick) para tratamento adjuvante da insuficiência cardíaca com fração de ejeção reduzida / Vanessa Meira Cintra. - João Pessoa, 2024.

138 f. : il.

Orientação: Suellen Mary Marinho dos Santos Andrade.

Coorientação: Jailane de Souza Aquino.

Tese (Doutorado) - UFPB/CCHLA.

1. Neuroestimulação. 2. HD-tDCS. 3. Insuficiência cardíaca fração de ejeção reduzida. 4. Alimentação funcional. 5. *Chlorella pyrenoidosa*. I. Andrade, Suellen Mary Marinho dos Santos. II. Aquino, Jailane de Souza. III. Título.



ATA DE DEFESA (TESE)

Aos vinte e um dias do mês de agosto de dois mil e vinte e quatro, às nove horas e trinta minutos, no Auditório Humberto Nóbrega (Centro de Ciências da Saúde), reuniram-se em solenidade pública os membros da comissão designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Neurociência Cognitiva e Comportamento para o exame da tese de doutorado da discente **VANESSA MEIRA CINTRA**, matrícula 20211031002. Foram componentes da banca examinadora os Professores Doutores: Suellen Mary Marinho dos Santos Andrade (presidente/orientadora), Jailane de Souza Aquino (coorientadora), Margareth de Fatima Formiga Melo Diniz (membro interno), Luiz Carlos Serramo Lopez (membro interno), João Felipe Bezerra (membro externo ao programa) e Egas Caparelli Moniz de Aragão Dáquer (membro externo à instituição/UERJ). Dando início aos trabalhos, o presidente da banca, Profa. Dra. Suellen Mary Marinho dos Santos Andrade, após declarar o objetivo da reunião, apresentou a examinanda **VANESSA MEIRA CINTRA** e, em seguida, concedeu-lhe a palavra para que apresentasse o seu trabalho, intitulado: **“EFEITO DA ESTIMULAÇÃO TRANSCRANIANA POR CORRENTE CONTÍNUA DE ALTA DEFINIÇÃO (HD-tDCS) E DO CONSUMO DE Chlorella pyrenoidosa (H. CHICK) PARA TRATAMENTO ADJUVANTE PARA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA COM FRAÇÃO DE EJEÇÃO REDUZIDA”**. Passando então ao aludido tema, a examinanda foi a seguir arguida pelos examinadores na forma regimentar. Ato contínuo passou a comissão, em secreto, a proceder à avaliação e julgamento do trabalho, concluindo por atribuir-lhe o conceito “APROVADO”, o qual foi proclamado pela presidência logo que esta foi franqueada ao recinto da solenidade pública. A versão final do trabalho deverá ser depositada em até 90 dias, contendo as modificações sugeridas pela banca examinadora. A discente não terá o título se não cumprir as exigências acima. Nada mais havendo a tratar, eu, **SUELLEN MARY MARINHO DOS SANTOS ANDRADE**, presidente da comissão examinadora, lavrei a presente ata, que depois de lida e aprovada por todos, assino juntamente aos demais membros da banca. João Pessoa, 21 de agosto de 2024.

Documento assinado digitalmente

gov.br

VANESSA MEIRA CINTRA
Data: 23/08/2024 07:11:34-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Vanessa Meira Cintra

Vanessa Meira Cintra (Doutoranda/PPGNeC)

Documento assinado digitalmente

gov.br

SUELLEN MARY MARINHO DOS SANTOS ANDRA
Data: 23/08/2024 12:54:34-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Suellen Mary Marinho dos Santos Andrade (Presidente/Orientadora)

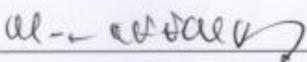
Documento assinado digitalmente

gov.br

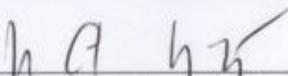
JAILANE DE SOUZA AQUINO
Data: 23/08/2024 11:17:22-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Jailane de Souza Aquino

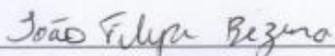
Dra. Jailane de Souza Aquino (Coorientadora)


Dra. Margareth de Fatima Formiga Melo Diniz (Membro Interno)

Documento assinado digitalmente
gov.br MARGARETH DE FATIMA FORMIGA MELO DINIZ
Data: 23/08/2024 12:45:01-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>


Dr. Luiz Carlos Serramo Lopez (Membro Interno)

Documento assinado digitalmente
gov.br LUIZ CARLOS SERRAMO LOPEZ
Data: 23/08/2024 09:33:03-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>


Dr. João Felipe Bezerra (Membro Externo ao Programa)

Documento assinado digitalmente
gov.br JOAO FELIPE BEZERRA
Data: 23/08/2024 08:14:54-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>


Dr. Egas Capparelli Moniz de Aragão Dáquer (Membro Externo à Instituição)

Documento assinado digitalmente
gov.br EGAS CAPPARELLI MONIZ DE ARAGAO DAQUER
Data: 25/08/2024 11:23:32-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

JOÃO PESSOA, PB

2024

Para Jailson, Rafael, Aílla e João Arthur.

AGRADECIMENTOS

Início meus agradecimentos à Deus, meu criador, que me deu vida e a verdadeira luz, que ilumina o caminho de todo aquele que crê em seu nome. Da sua plenitude me concede diariamente a Sua graça, que abre o meu entendimento e me guia continuamente. A Ele toda glória e louvor.

À Jailson, meu amor, meu marido, meu amigo e meu parceiro de doutorado, por sua constante motivação, carinho, pelos momentos de estudo, de reflexão e companheirismo nessa nossa jornada. Meu sentimento é de gratidão e de alegria por mais um projeto que pudemos realizar juntos, sem você esse êxito não seria possível.

Agradeço aos meus pais, Gizélia e Marcus, pelos ensinamentos e apoio contínuo na vida e nessa jornada do doutorado. Aos meus amados filhos, Rafael e João Arthur, e a Aílla, filha do meu coração, que me motivam cotidianamente à busca de autossuperação e tanto torceram para a conclusão do meu doutorado.

Aos meus irmãos, Matheus e Fellipe, pelos exemplos de determinação e palavras de apoio. Aos meus amigos e familiares que compreenderam minhas ausências e me motivaram a seguir em frente nesse caminho.

À Bruno Leandro e Narriane Chaves, pelo nosso início nesse caminho da pesquisa por meio do nosso mestrado e que ainda comungamos juntos de um ideal de crescimento e de ideais. A Emeline Trindade por todo estímulo e por ser, desde nossa graduação em Nutrição, uma parceira de estudo, de produção científica, me ajudando a olhar para frente. A Gizele Zambrano por me acompanhar desde a escola em todos os meus passos acadêmicos e de vida, sendo uma escuta amiga, me ajudando a seguir. À Karla Mateus, irmã de fé e estimuladora do meu ingresso a esse doutorado, sempre estando presente em momentos difíceis, até sem saber, chegando na hora certa. Vocês são para mim como parte da minha família, aos quais deixo meu abraço fraterno.

À professora Dra. Suellen Andrade, minha nobre orientadora, que com delicadeza, competência e muito conhecimento compartilhado me ajudou na condução desse campo do conhecimento, que é a Neurociência. Também à professora Dra. Jailane Aquino por sua co-orientação fortalecendo em mim, com sua ética, conhecimento e competência a riqueza do campo da Nutrição. E assim, pudemos unir esses dois mundos juntas, muito obrigada.

À Prof. Dra. Margareth Diniz, a qual é mais que um exemplo de Pesquisadora a ser seguida e admirada, abraçou esse projeto conosco, dando-nos direcionamentos, orientação e estímulo para a conclusão desta pesquisa.

Aos Professores Dr Egas Caparelli, Dr. João Felipe e Dr. Luiz Carlos Serramo, membros da banca avaliadora, que proporcionaram, com seus conhecimentos, experiências e valorosas contribuições, enriquecimento em ciência e acadêmico, apresentado novos direcionamentos à esta tese.

Aos colaboradores dessa pesquisa, Alane Leôncio, Marta Gomes, Maria Paula de Paiva, Maria Thayná Bernardo, Januse Millia, Jackeline Sales e Bruno Brito. Com sua dedicação, ética e tempo ofertado à pesquisa puderam contribuir com os achados desta tese. A vocês meu sincero sentimento de gratidão.

Aos pacientes desta pesquisa por acreditarem na ciência, permitindo o avanço desta, sendo os protagonistas dos achados desta pesquisa.

Aos médicos, enfermeiros, nutricionistas, terapeutas ocupacionais, fisioterapeutas e a gestão do Hospital Metropolitano Dom José Maria Pires, aqui representados pelo Dr. Matheus Agra, Dr. Gustavo Fernandes, Dra. Tauanny Frasso, por toda abertura à condução da pesquisa, pelo acolhimento e contribuição direta para que lográssemos êxito. Aos pesquisadores da Soterix CO., aqui representados por Abhishek Datta e ao Laboratório Diagfarma, aqui representado por Darlan Barbosa, por Marília Lima (responsável técnica do laboratório), por Allan Lopes (gerente geral dos laboratórios) por acreditarem nesta pesquisa, auxiliando no cofinanciamento, apoio técnico e científico.

Ao Excelentíssimo Governador do Estado da Paraíba, João Azevedo, aqui representado pelo então Secretário de Estado da Saúde, Dr. Jhony Bezerra e atual pelo Dr. Arimatheus Reis, pelo estímulo à condução de pesquisas no estado, pela sensibilidade no fortalecimento de um tema tão necessário e presente na população paraibana, as cardiopatias, por meio de um tema inovador, a neurociência, e pelo incentivo ao fortalecimento da força de trabalho e pesquisa da SES/SUS, aqui representados por mim, servidora do estado da Paraíba. Ofereço aqui meu sincero agradecimento.

À Universidade Federal da Paraíba e ao Programa de Pós-Graduação em Neurociência Cognitiva e Comportamento, aqui representados pelo Reitor Dr. Valdiney Gouvêia, pelo então coordenador do programa, Prof. Dr. Flávio Freitas e pela atual coordenadora do programa, Prof. Dra. Melyssa Galdino, e por Camila de Santana, assistente administrativa do programa, que com a organização, zelo e comprometimento com a ciência e com a sociedade puderam me conduzir a este tão valoroso e sonhado título.

“O sonho é que leva a gente pra frente”

Ariano Suassuna

SUMÁRIO

RESUMO	21
ABSTRACT	22
APRESENTAÇÃO	23
I INTRODUÇÃO	24
I.1 Aspectos Gerais da Insuficiência Cardíaca	24
I.2 Insuficiência Cardíaca de Fração de Ejeção Reduzida	25
I.2.1 Aspectos Fisiopatológicos, Diagnóstico e Tratamento da ICFEr	26
I.2.2 O Período Pericirúrgico da ICFEr	29
I.3 Aspectos Nutricionais da IC	29
I.4 Relação entre a Insuficiência Cardíaca com Fração de Ejeção Reduzida, a Vitamina B12 e o Consumo de <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	33
I.4.1 A Vitamina B12 e a sua Influência sobre o Cérebro e a IC	33
I.4.2 Aspectos Físico-Químicos e Biológicos da <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	35
I.4.3 Efeitos Positivos do Consumo da <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	36
I.5 Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua de Alta Densidade (HD-tDCS) como Adjuvante Terapêutico nas Doenças Cardíacas	38
I.5.1 Breve Histórico da Neuroestimulação	38
I.5.2 Propriedades Técnicas da HD-tDCS	40
I.5.3 Uso da Estimulação Cerebral nos Distúrbios Inflamatórios e a Doença Cardíaca.....	42
I.5.4 Efeito <i>Priming</i> da HD-tDCS para Cirurgia Cardíaca	44
II DESENHO DA INVESTIGAÇÃO	46
II.1 Justificativa e Apresentação do Problema	46
II.2 Hipóteses	48
II.3 Objetivos	49
II.3.1 Objetivo Geral	49
II.3.1 Objetivos Específicos	49
III MÉTODOS	50
III.1 Desenho do Estudo	50
III.2 Cenário da Pesquisa	50
III. 3 Participantes	52
III.3.1 Cálculo Amostral	52

III.3.2 Recrutamento e Critérios de Elegibilidade	52
III.3.3 Randomização e Blindagem	53
III.3.4 Atrito e Aderência	53
III.4 Intervenções Clínicas	54
III.4.1 Ensaio Clínico 1 – HD-tDCS	54
III.4.2 Ensaio Clínico 2 – <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	55
III.4.2.1 Alimentação Funcional	55
III.4.2.2 Avaliação do Consumo	58
III.4.3 Intervenções Clínicas Comuns aos Dois Estudos.....	58
III.4.3.1 Antropometria	58
III.4.3.2 Parâmetros Bioquímicos	61
III.5 Desfechos Clínicos	63
III.5.1 Desfechos Clínicos do Ensaio Clínico 1	64
III.5.2 Desfechos Clínicos do Ensaio Clínico 2	64
III.6 Recursos Humanos e Procedimentos da Pesquisa	65
III.7 Segurança e Critérios Éticos	66
III.8 Análise Estatística	67
IV RESULTADOS	69
IV.1 Ensaio Clínico 1: Estudo Pré-Cirúrgico com HD-tDCS em Pacientes com HCFEr	69
IV.1.1 Descrição Sociodemográfica, Estilo de Vida e Clínica do Grupo	69
IV.1.2 Desfecho Primário do Ensaio Clínico Randomizado 1	71
IV.1.3 Desfechos Secundários do Ensaio Clínico Randomizado 1	72
IV.1.4 Resultados de Segurança do Clínico Randomizado 1	75
IV.2 Ensaio Clínico 2: Estudo Pré-Cirúrgico com Consumo de <i>Chlorella pyrenoidosa</i> com Pacientes com HCFEr	76
IV.2.1 Descrição Sociodemográfica, Estilo de Vida e Clínica do Grupo	77
IV.2.2 Desfecho Primário do Ensaio Clínico Randomizado 2	78
IV.2.3 Desfechos Secundários do Ensaio Clínico Randomizado 2	79
IV.2.4 Resultados de Segurança do Clínico Randomizado 2	82
V DISCUSSÃO	83
V.1 Alterações de Biomarcadores Inflamatórios, Cardíaco e Nutricionais Mediante a Terapia por HD-tDCS nos Pacientes com ICFEr como <i>Priming</i> antes do Procedimento Cirúrgico no Ensaio Clínico Randomizado 1	83

V.2 Alterações de Biomarcadores Inflamatórios, Cardíacos e Nutricionais mediante Terapia por <i>Chlorella pyrenoidosa</i> no Ensaio Clínico Randomizado 2..	86
V.3 Achados em Comum nos Ensaios Clínicos Randomizados	87
V.4 Limitações da Pesquisa e Considerações Futuras.....	89
VI CONSIDERAÇÕES FINAIS	91
REFERÊNCIAS	92
ANEXO I – TCLE	112
ANEXO II – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA	114
ANEXO III – ITENS DO SPIRIT.....	116
ANEXO IV – FERRAMENTAS DA PESQUISA	118
ANEXO V – AUTORIZAÇÕES PARA USO DE IMAGENS	120
ANEX IV – ARTIGOS PUBLICADOS E ENVIADOS PARA PUBLICAÇÃO DA TESE	121

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 Marcos Históricos das Fases da Neuromodulação Não-Invasiva	39
FIGURA 2 Simulação do Campo Elétrico por tDCS (ânodo: C4; cátodo: ombro esquerdo) e por HD-tDCS (ânodo: C4; cátodos: FC2, FC6, CP2, CP6) representado a Focalidade	42
FIGURA 3 Desenho do Estudo	51
FIGURA 4 Posicionamento do Eletrodos para Estímulo por HD-tDCS segundo Sistema Internacional 10/20.....	54
FIGURA 5 Indivíduos Incluídos, Randomizados e Acompanhamento dos Participantes do Ensaio Clínico Randomizado 1 - Pré-Cirúrgico com Estímulo <i>Priming</i> por HD-tDCS	69
FIGURA 6 Análise das Comparações por Média do Perfil Inflamatório entre os Grupos de Intervenção da Fase Hospitalar por HD-tDCS em Pacientes com Insuficiência Cardíaca com Fração de Ejeção Reduzida e em Internamento Pré-Cirúrgico.....	72
FIGURA 7 Análise de Sobrevivência, Curvas de Kaplan-Meier do Ensaio Clínico Randomizado 1 entre os Grupos (HD-tDCS e Sham) e os Dias de Internamento e Internamento na UTI.....	74
FIGURA 8 Indivíduos Incluídos, Randomizados e Acompanhamento dos Participantes do Ensaio Clínico 2 - Pós-Cirúrgico com Pacientes tratados com <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	76
FIGURA 9 Análise das Comparações dos Percentuais de Adequação da B12 (com Intervalor de Confiança) dos Grupos de Intervenção do Ensaio Clínico Randomizado 2 – Consumo de B12 em Pacientes com Insuficiência Cardíaca com Fração de Ejeção Reduzida em Tratamento Pós-Cirúrgico	79
FIGURA 10 Análise das Comparações dos Percentuais de Adequação de Marcadores Inflamatório, Cardíaco e Nutricional nos Grupos de Intervenção do Ensaio Clínico Randomizado 2 – Consumo de B12 em Pacientes com Insuficiência Cardíaca com Fração de Ejeção Reduzida em Tratamento Pós-Cirúrgico	80

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 Métodos para Classificação da Insuficiência Cardíaca	27
QUADRO 2 Métodos Antropométricos e de Avaliação Nutricional Adotados para a Pesquisa	59
QUADRO 3 Métodos de Análise dos Exames Bioquímicos da Pesquisa e os Pontos de Corte	62
QUADRO 4 Execução das Atividades e Atribuições dos Pesquisadores de Acordo com o Desenho da Pesquisa	65
QUADRO 5 Atribuições dos Pesquisadores para a Aplicação da HD-tDCS e Ferramentas da Pesquisa	66

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 Composição Proximal e Concentração de Ácidos Orgânicos e Compostos Fenólicos da <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	57
TABELA 2 Dados Demográficos, de Estilo de Vida, Comorbidades e Antropométricas ECR 1	60
TABELA 3 Análise Comparativa entre os Tempos do Ensaio Clínico Randomizado1 (T0-T1) e entre os Grupos Ativo e Placebo para Intervenção por HD-tDCS em Pacientes com ICFEr no Período Pré-Operatório	73
TABELA 4 Modelo de sobrevivência Cox para Análise de Risco do Ensaio Clínico Randomizado 1 nos Grupos (HD-tDCS e Sham) e os Dias de Internamento e Internamento na UTI	74
TABELA 5 Comparação das Médias dos Dias de Internamento, dos Dias de Internamento na UTI e Sinais Vitais por Grupo de Intervenção da Fase I (HD-tDCS)	75
TABELA 6 Dados Demográficos, de Estilo de Vida, Comorbidades e Antropométricas	77
TABELA 7 Análise Comparativa de Proporção dos Marcadores Inflamatórios e de Lesão Tecidual e Cardíaca entre os Tempos do Ensaio Clínico Randomizado 2 (T0-T1) e entre os Grupos Ativo e Controle para Intervenção por <i>Chlorella pyrenoidosa</i> em Pacientes com ICFEr no Período Pós-Operatório	81

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ALA	Ácidos-Linolênicos
ARA	Ácido Araquidônico
ARM	Antagonistas dos Receptores de Mineralocorticoides
AVC	Acidente Vascular Cerebral
AVE	Acidente Vascular Encefálico
BNP	Peptídeo Natriurético Tipo B
BRA	Bloqueadores dos Receptores de Angiotensina
CAAE	Certificado de Apresentação de Apreciação Ética
CID	Classificação Internacional de Doenças
CMSD	Comitê de Monitoramento e Segurança dos Dados
COVID-19	<i>(Co)Rona (Vi)Rus (D)Isease</i> - Doença do Coronavírus
CPF DL	Córtex Pré-Frontal Dorsolateral
CPF DL _e	Córtex Pré-Frontal Dorsolateral Esquerdo
DAC	Doença Arterial Coronária
DCV	Doenças Cardiovasculares
DHA	Ácido Docosahexaenóico
DIC	Doença Isquêmica do Coração
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DP	Desvio Padrão
DRC	Doença Renal Crônica
DV	Demência Vascular
DVC	Demência Vascular Cerebral
EPA	Ácido Eicosapentaenoico
ETCC	Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua

FEVE	Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo
HA	Hipertensão Arterial
HADS	<i>Hospital Anxiety and Depression Scale</i>
HCY	Homocisteína Plasmática
HDL	<i>High Density Lipoprotein</i>
HD-TDCS Contínua de Alta Definição	Estimulação Transcraniana por Corrente
HD-TES	Estimulação Elétrica Transcraniana de Alta Definição
HF	Alta Frequência
HHCY	Hiper-Homocisteinemia
IC	Insuficiência Cardíaca
IC-FEI	Insuficiência Cardíaca com Fração de Ejeção Intermédia
IC-FEP	Insuficiência Cardíaca com Fração de Ejeção Preservada
ICFER	Insuficiência Cardíaca com Fração de Ejeção Reduzida
IECA	Inibidores da Enzima Conversora de Angiotensina
IFN- Γ	Interferon- <i>Gama</i>
IL-1B	Interleucina 1- <i>Beta</i>
IL-6	Interleucina - 6
IMC	Índice de Massa Corporal
LABEN	Laboratório de Estudos em Envelhecimento e Neurociências
MG	Magnésio
MNA	Mini Avaliação Nutricional
NRS	<i>Nutritional Risk Screening</i>
NT-pró-BNP	Peptídeo Natriurético Tipo B e Sua Pró-Molécula
NYHA	<i>New York Heart Association</i>
PCR	Proteína C-Reativa

PICS	Síndrome do Catabolismo Inflamatório Persistente
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
RTACS	Estimulação Repetitiva Transorbital por Corrente Alternada
SARS-COV-2	síndrome Respiratória Aguda Grave Coronavírus 2
SE	Selênio
SGLT2	Dapagliflozina Ou Empagliflozina
SNC	Sistema Nervoso Central
SOD	Superóxido Desmutase
SOFA	<i>Sequential Organ Failure Assessment</i>
SO-TDCS	Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua Oscilante
SRAA	Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona
TACS	Estimulação Transcraniana por Corrente Alternada
TCES	Estimulação Elétrica Transcorneana
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TDCS	Estimulação Transcraniana por Corrente Direta
TDM	Transtorno Depressivo Maior
TES	Estimulação Transcraniana Elétrica
TMS	Estimulação Magnética Transcraniana
TNF-A	Fatores de Necrose Tumoral Alfa
TNS	Estimulação do Nervo Trigêmeo por Corrente Elétrica
TPCS	Estimulação Transcraniana por Corrente Pulsada
TRNS	Estimulação Transcraniana por Ruído Aleatório
TS-DCS	Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua Sinusoidal
TSES	Estimulação Elétrica Transescleral
TUS	Estimulação por Ultrassonografia Transcraniana
UFPB	Universidade Federal da Paraíba

UTI

Unidade de Terapia Intensiva

VFC

Variabilidade Da Frequência Cardíaca

Cintra, V. M. (2024). Efeito da Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua de Alta Definição (HD-tDCS) e do consumo de *Chlorella pyrenoidosa* (H. Chick) para Tratamento Adjuvante para Insuficiência Cardíaca com Fração de Ejeção Reduzida. 139p. Tese Doutorado. Universidade Federal da Paraíba, Programa de Pós-Graduação em Neurociências Cognitiva e Comportamental (PPGNEC), João Pessoa, Brasil.

RESUMO

A insuficiência cardíaca de fração de ejeção reduzida (ICFER) é uma condição complexa e multifatorial que leva a prejuízos funcionais relacionados à disrupção na cascata inflamatória e depleção de nutrientes, que podem impactar na qualidade de vida e aumento de internamentos hospitalares. A cirurgia cardíaca é um mecanismo de reparo na ICFER que tem impacto na mortalidade, eleva marcadores inflamatórios, necessitando de acompanhamento. A suplementação de B12 por meio da *Chlorella pyrenoidosa* (microalga - alimento funcional) reduz o dano cardíaco e modula a cascata inflamatória. E ainda, a Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua de Alta Definição (HD-tDCS), uma técnica não invasiva capaz de modular a excitabilidade neuronal e induzir efeitos anti-inflamatórios. Neste sentido, objetivou-se em avaliar os efeitos da HD-tDCS e do consumo de *Chlorella pyrenoidosa* para melhora dos níveis de B12 e resposta inflamatória em pacientes com ICFER no período pericirúrgico. Trata-se de dois ensaios clínicos randomizados (ECR), controlado, duplo-cego para fins de avaliar o período pericirúrgico. Um com 36 pacientes internados para procedimento cirúrgico utilizando a HD-tDCS como *priming* para cirurgia. E outro em ambiente ambulatorial com 26 pacientes de pós-cirúrgico da ICFER acompanhados por 30 dias. Em ambos os estudos, foram realizadas avaliações na linha de base e após os tratamentos. O protocolo de HD-tDCS foi composto por 5 sessões, aplicadas uma vez por dia, pelo período de até 5 dias antes da cirurgia, com estimulação no Córtex Pré-frontal Dorsolateral, com intensidade de 4mA e duração de 20 minutos cada. Na alta hospitalar os grupos foram invertidos compondo o outro ECR e o grupo ativo passou a ser o da intervenção por meio da *Chlorella pyrenoidosa*, cujos participantes recebiam orientação ao consumo de 10 tabletes, 5g/dia, contendo 4mcg de B12, durante o período de trinta dias. Após esse período faziam o retorno para avaliação nutricional e coleta de exames finais. Ambos ECRs obtiveram perfil dos participantes similar, compostos por idosos, com elevada proporção de comorbidades como hipertensão arterial e doença coronariana arterial, além de níveis elevados de sobrepeso, obesidade e desnutrição. No ECR com HD-tDCS como *priming* para cirurgia observou-se redução da IL-6 após o protocolo [$Z=-2,556$; $p<0,01$] reduzindo a média [8,35 pg/mL (IIQ4,15) / 4,70 pg/mL (IIQ3,95);]. No ECR com consumo de *Chlorella pyrenoidosa* observou-se redução da PCR [PCR adequada T0 = 0% / 50% (IC 25,38-74,62), IL-6 [T0 Risco Aumentado = 100,0% (IC 75,75-100,0)/ G1 T1 = 66,67% (IC 39,06 – 88,19)]; e NT-Pro-BNP [T0 Risco Aumentado = 91,67% (IC 61,61-99,57)/ T1 = 25,0% (IC 8,89 – 52,23)], mas sem aumento na vitamina B12. Assim, considera-se que a intervenção por HD-tDCS foi uma ferramenta neuromodulatória e de proteção cardíaca em pacientes com ICFER pré-cirúrgicos em relação a marcador inflamatório e a intervenção por *C. pyrenoidosa* em pacientes pós-cirúrgicos em marcadores inflamatórios e de injúria cardíaca também sendo uma ferramenta de neuro e cardioproteção. A pesquisa infere achados satisfatórios para redução da disrupção inflamatória da ICFER no período pericirúrgico.

Palavras-Chave: Neuroestimulação; HD-tDCS; Insuficiência Cardíaca de Fração de Ejeção Reduzida; Alimentação Funcional; Vitamina B12; *Chlorella pyrenoidosa*.

Cintra, V. M. (2024). Effect of High-Definition Transcranial Direct Current Stimulation (HD-tDCS) and *Chlorella pyrenoidosa* (H. Chick) consumption for Adjuvant Treatment of Heart Failure with Reduced Ejection Fraction. 139p. Doctoral Thesis. Universidade Federal da Paraíba, Posgraduate Program in Cognitive and Behavioral Neurosciences (PPGNEC), João Pessoa, Brasil.

ABSTRACT

Heart failure with reduced ejection fraction (HFrEF) is a complex and multifactorial condition that leads to functional impairments related to disruption in the inflammatory cascade and nutrient depletion, which can impact quality of life and increase hospitalizations. Cardiac surgery is a repair mechanism in HFrEF that has an impact on mortality, elevates inflammatory markers, and requires monitoring. B12 supplementation through *Chlorella pyrenoidosa* (microalgae - functional food) reduces cardiac damage and modulates the inflammatory cascade. In addition, High-Definition Transcranial Direct Current Stimulation (HD-tDCS), a non-invasive technique capable of modulating neuronal excitability and inducing anti-inflammatory effects. In this sense, the objective was to evaluate the effects of HD-tDCS and the consumption of *Chlorella pyrenoidosa* to improve B12 levels and inflammatory response in patients with HFrEF in the perisurgical period. These are two randomized controlled double-blind clinical trials (RCTs) to evaluate the peri-surgical period. One involved 36 patients hospitalized for surgical procedures using HD-tDCS as a *priming* for surgery. The other was conducted in an outpatient setting with 26 post-surgical patients with HFrEF who were followed for 30 days. In both studies, baseline and post-treatment assessments were performed. The HD-tDCS protocol consisted of 5 sessions, applied once a day, for a period of up to 5 days before surgery, with stimulation of the Dorsolateral Prefrontal Cortex, with an intensity of 4 mA and a duration of 20 minutes each. At hospital discharge, the groups were reversed, composing the other RCT, and the active group became the intervention group using *Chlorella pyrenoidosa*, whose participants were instructed to consume 10 tablets, 5 g/day, containing 4 mcg of B12, for a period of thirty days. After this period, they returned for nutritional assessment and final exams. Both RCTs obtained a similar participant profile, composed of elderly people, with a high proportion of comorbidities such as arterial hypertension and coronary artery disease, in addition to high levels of overweight, obesity and malnutrition. In the RCT with HD-tDCS as a *priming* for surgery, a reduction in IL-6 was observed after the protocol [$Z=-2.556$; $p<0.01$] reducing the mean [8.35 pg/mL (IIQ4.15) / 4.70 pg/mL (IIQ3.95)]. In the RCT with *Chlorella pyrenoidosa* consumption, a reduction in CRP [adequate CRP T0 = 0% / 50% (CI 25.38-74.62), IL-6 [T0 Increased Risk = 100.0% (CI 75.75-100.0)/ G1 T1 = 66.67% (CI 39.06 - 88.19)]; and NT-Pro-BNP [T0 Increased Risk = 91.67% (CI 61.61-99.57)/ T1 = 25.0% (CI 8.89 - 52.23)] was observed, but without an increase in vitamin B12. Thus, it is considered that the intervention by HD-tDCS was a neuromodulatory and cardiac protection tool in pre-surgical patients with HFrEF in relation to inflammatory marker and the intervention by *C. pyrenoidosa* in patients post-surgical markers of inflammation and cardiac injury, also being a tool for neuro and cardioprotection. The research infers satisfactory findings for reducing inflammatory disruption of HFrEF in the peri-surgical period.

Keywords: Neurostimulation; HD-tDCS; Heart Failure with Reduced Ejection Fraction; Functional Nutrition; Vitamin B12; *Chlorella pyrenoidosa*.

APRESENTAÇÃO

Esta tese tem como objetivo central avaliar os efeitos clínicos de terapias adjuvantes e não farmacológicas para pacientes portadores de insuficiência cardíaca com fração de ejeção reduzida (ICF_{Er}) no período pericirúrgico.

Dessa forma, foram conduzidos dois ensaios clínicos, respectivamente antes e após a cirurgia de revascularização miocárdica para avaliar a eficácia de cada um dos tratamentos testados. O Estudo 1 propôs analisar o efeito *priming* da HD-tDCS antes da cirurgia (especificar o tipo de cirurgia) nos desfechos inflamatórios. O estudo 2 objetivou avaliar efeito terapêutico da *Chlorella pyrenoidosa* após o procedimento cirúrgico na melhora da vitamina B12 (B12).

Nesse sentido, o presente trabalho encontra-se organizado em seis capítulos. No capítulo I, são abordados o racional teórico relacionado à ICF_{Er} em seus diferentes contextos epidemiológicos, fisiopatológicos, diagnóstico, tratamento e período pericirúrgico. Adicionalmente, apresenta-se a relação da ICF_{Er} com os aspectos nutricionais e os possíveis efeitos terapêuticos da *Chlorella pyrenoidosa*. De modo complementar, o texto apresenta os fundamentos teóricos associados à estimulação cerebral não invasiva, especificamente a HD tDCS (high definition transcranial direct current stimulation), no contexto da doença cardíaca e seus possíveis correlatos terapêuticos.

Já o Capítulo II, apresenta a justificativa para o desenho da investigação, as hipóteses e os objetivos da tese. No capítulo III, o texto detalha o método escolhido para a condução da tese, bem como as especificidades metodológicas de cada ensaio clínico. Nos capítulos IV e V são abordados os resultados e a discussão concernente a cada estudo. Ao final, no capítulo VI, são apresentadas as considerações finais da tese.

I INTRODUÇÃO

I.1 Aspectos Gerais da Insuficiência Cardíaca

Em nível mundial as doenças cardiovasculares (DCV) têm sido consideradas a principal causa de mortalidade e contribuinte para incapacidade e redução da qualidade de vida. Além de que, causas modificáveis ainda crescem em nível mundial, alerta-se para a redução da incapacidade e morte prematura devido às DCV, bem como intervenções clínicas para atingir os riscos modificáveis (Roth *et al*, 2020). A carga de DCV atribuível a fatores de risco modificáveis continua a aumentar globalmente.

As Doenças Cardiovasculares (DCV) contribuíram em 28,2% para as mortes no Brasil em 2019, e cujos fatores de risco mais observados em 10 anos foram: hipertensão arterial (HA), alteração glicêmica e alimentação inadequada (Nascimento *et al*, 2022). As DCV têm aumentado na população, e, nesse sentido, tem-se desenvolvido tratamentos mais específicos (tecnologias transformadoras e expansão de novos fármacos) proporcionando aos pacientes mais longevidade, alterando a história natural das doenças cardíacas, consideradas terminais (Katz *et al*, 2016).

Estas condições estão relacionadas também à transição demográfica e envelhecimento da população, mas também a um estilo de vida inadequado - como sedentarismo, obesidade e o estresse - levando a um aumento da prevalência dos fatores de risco como HA, tabagismo, diabetes e dislipidemia, com consequente aumento da mortalidade e morbidade da DVC (SBC, 2019). A HA frequentemente evolui com alterações estruturais e/ou funcionais em órgãos-alvo, como coração e vasos, mais especificamente nesses com associação linear e contínua para as DCV (Barroso, *et al*, 2021).

Pode-se classificar as doenças cardiovasculares a partir do Classificação Internacional de Doenças (CID), as quais estão listadas Capítulo IX da CID-10. Também podem ser agrupadas das 3 principais causas (Doença isquêmica do coração (DIC), Acidente Vascular Cerebral (AVC) e insuficiência cardíaca (IC)), sendo DIC a principal causa de morte no Brasil nos últimos 10 anos e, a IC a que gerou mais admissões em ambiente hospitalar (Fernandes *et al*, 2019).

A insuficiência cardíaca (IC) tem fisiopatologia complexa e heterogênea, ainda é pouco compreendida e com diagnóstico e tratamento desafiadores, portanto, não é um diagnóstico patológico único, mas uma síndrome que consiste em sintomas e sinais como falta de ar, tornozelo inchado, fadiga, pressão venosa jugular elevada, crepitações pulmonares e edema

periférico. Também, é oportuno frisar que na IC há uma anormalidade estrutural e/ou funcional do coração que resulta em pressões intracardíacas elevadas e/ou insuficiência cardíaca (Fernandes *et al*, 2019; Marcondes-Braga *et al*, 2021).

Assim, são observados quadros agudos e crônicos na insuficiência cardíaca (IC), sendo crônica quando os sinais e sintomas aparecem lentamente e pioram com os mecanismos subjacentes (isquemia, infecções, estresse mecânico), e aguda quando advém de um novo sintoma ou exacerbação da IC crônica (hipertensão agravada, síndrome coronariana aguda, arritmias) (Zhang *et al*, 2017; Mcdonagh *et al*, 2022).

Identifica-se ainda três tipos de IC, cuja terminologia baseia-se na fração de ejeção do ventrículo esquerdo, ou seja, IC com fração de ejeção reduzida <40% (ICFEr), IC com fração de ejeção intermédia entre 40-49% (IC-FEi) e IC com fração de ejeção preservada \geq 50% (IC-FEp) (Marcondes-Braga *et al*, 2021). Estas condições levam a alteração no desempenho do coração como uma bomba e compartilham altas taxas de mortalidade e hospitalização. A sintomatologia é sobreposta, incluindo fadiga, dispneia e tolerância reduzida ao exercício, porém na ICFEP, em virtude dos fatores de risco acumulados, ocorre concomitantemente com disfunção endotelial e elevação de marcadores inflamatórios (Harris *et al*, 2020).

Há ainda a cardiomiopatia dilatada, sendo classificada como uma doença frequente, responsável por 40-50% dos casos de insuficiência cardíaca. A cardiomiopatia idiopática é um distúrbio primário frequentemente relacionado à predisposição familiar/genética (Hantson, 2019).

I.2 Insuficiência Cardíaca de Fração de Ejeção Reduzida

A IC tem afetado cerca de 1% a 3% da população adulta nos países desenvolvidos, tal condição aumenta sensivelmente com a idade, atingindo mais de 10% da população acima dos 70 anos, havendo uma relação com a mortalidade e qualidade de vida, considerando ainda que a urbanização, envelhecimento populacional e melhor tratamento de doenças cardíacas agudas têm contribuído para um aumento no número de indivíduos vivendo com ICFEr (Marcondes-Braga, 2021; Heidenreich *et al.*, 2022).

Em um estudo ecológico realizado para observar a mortalidade por IC no Brasil nos anos de 2008 a 2019, os autores identificaram mais de 2 milhões de internações e mais de 252 mil óbitos, com tendência de aumento no Nordeste e de manutenção das taxas na Paraíba (Arruda *et al*, 2022). Reforçam ainda que mesmo com o avanço do tratamento e manejo da IC,

esta condição ainda leva a muitos internamentos e óbitos, principalmente com idosos e em ambiente hospitalar.

Por esse motivo, e pela fisiopatologia que é complexa e ainda pouco compreendida, reforça-se a relevância do conhecimento fisiopatológico da IC como ferramenta didática para direcionamento das estratégias terapêuticas e evolução do tratamento ensejando em melhor qualidade de vida (Scolari *et al*, 2018; Fernandes *et al*, 2019).

A insuficiência cardíaca de fração de ejeção reduzida é uma condição complexa e multifatorial que representa um importante desafio na cardiologia moderna. Caracteriza-se por uma diminuição na capacidade do ventrículo esquerdo de ejetar sangue de forma eficaz durante a sístole, resultando em uma fração de ejeção menor que 40%. Essa insuficiência no bombeamento do sangue leva a uma inadequada perfusão dos tecidos e a uma série de adaptações fisiológicas adversas que comprometem ainda mais a função cardíaca (Heidenreich *et al.*, 2022).

I.2.1 Aspectos fisiopatológicos, diagnóstico e tratamento da ICFEr

A fisiopatologia da ICFEr envolve múltiplos mecanismos inter-relacionados. Inicialmente, uma agressão ao miocárdio, como um infarto agudo do miocárdio, desencadeia uma cascata de eventos que incluem apoptose celular, inflamação e remodelamento ventricular. Esse remodelamento é caracterizado por dilatação do ventrículo, hipertrofia compensatória e alterações na composição da matriz extracelular, que culminam em uma deterioração progressiva da função contrátil. Adicionalmente, sistemas neuro-hormonais, como o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) e o sistema nervoso simpático, são ativados em resposta à diminuição do débito cardíaco, exacerbando a retenção de sódio e água, o que aumenta a carga de trabalho cardíaco (Mcdonagh *et al.*, 2021).

Assim, de forma resumitiva a teoria neuro-humoral da progressão da ICFEr está relacionada a hiperativação do SNS e do eixo renina-angiotensina-aldosterona, juntamente com o aumento de peptídeos dependentes de carga e ativação de cascatas inflamatórias, tal condição neutraliza e compensa um insulto inicial do miocárdio, mas a longo prazo, ela contribui para a progressão da doença, por este motivo a relevância do tratamento adequado (Quinaglia *et al*, 2018).

Para fins de diagnóstico são de suma relevância os aspectos fisiopatológicos da doença em especial o entendimento que a ICFEr está relacionada com remodelamento cardíaco, torna-se relevante observar a dosagem de catecolaminas, evidência inequívoca de congestão sistêmica

ou pulmonar cardiogênica, capacidade funcional, consumo máximo de oxigênio, dosagem de peptídeo natriurético, classificação funcional, ultrassonografia pulmonar e ecocardiografia (Barbosa-Ferreira & Oliveira, 2022; Conitec, 2023). Os pontos de corte dos métodos encontram-se no quadro 1.

Quadro 1. Métodos para Classificação da Insuficiência Cardíaca

Definição de insuficiência cardíaca, de acordo com a fração de ejeção de ventrículo Esquerdo (Função ventricular, biomarcadores e ecocardiograma)			
	ICFEr	ICFEm	ICFEp
Função ventricular	FEVE<40%	FEVE 40 – 49%	FEVE≥50%
Biomarcadores	BNP e NT-pró-BNP elevados (< 35pg/mL e <125pg/mL)	BNP e NT-pró-BNP elevados (< 35pg/mL e <125pg/mL)	BNP e NT-pró-BNP elevados (< 35pg/mL e <125pg/mL)
Ecodopplercardiograma	Alteração estrutural e disfunção sistólica	Alteração estrutural e/ou disfunção diastólica	Alteração estrutural e/ou disfunção diastólica
Classificação funcional pela <i>New York Heart Association</i> (NYHA)			
Classe NYHA	Descrição		
I	Sem limitações para realização de atividade física. Atividades habituais não causam dispneia, cansaço, palpitações.		
II	Discreta limitação para realização de atividade física. Atividades habituais causam dispneia, cansaço, palpitações.		
III	Importante limitação para realização de atividade física. Atividades de intensidades inferiores causam dispneia, cansaço, palpitações.		
IV	Limitações para realização de qualquer atividade física. Sintomas de IC em repouso.		

Fonte: Conitec, 2023; Heidenreich *et al.*, 2022

O diagnóstico e o monitoramento da IC podem ocorrer também com a dosagem da proteína natriurética (BNP ou NT-pró-BNP) nas seguintes condições: na dúvida do diagnóstico da IC; para estratificação prognóstica em pacientes de IC e para avaliar a resposta a um determinado tratamento (Marcondes-Braga *et al.*, 2021). Reforça-se que BNP ou NT-pró-BNP possuem propriedades semelhantes e os pontos de corte indicados são < 35pg/mL e <125pg/mL, respectivamente (Conitec, 2023).

Conceitualmente BNP significa *brain natriuretic peptide*, sendo uma proteína natriurética produzida pelas células do músculo cardíaco e pró-BNP é um pró-hormônio que é liberado no sistema cardiovascular em resposta à dilatação ventricular e sobrecarga de pressão e o NT é o fragmento terminal inativo deste que é clivado por uma protease. Estes peptídeos atenuam a vasoconstrição e a retenção de sódio, de modo a retardar o remodelamento cardíaco e vascular (Taylor *et al.*, 2018; Scolari *et al.*, 2018).

Para o diagnóstico pode ser usada ainda a classificação funcional *New York Heart Association* (NYHA) que avalia a gravidade da limitação funcional do paciente e observar a partir dos relatos os sintomas experimentados (Heidenreich *et al.*, 2022; Conitec, 2023).

De forma associada, a combinação de fatores de risco pode acelerar o processo de remodelamento ventricular adverso e agravar a função cardíaca. Nesse sentido, devem ser considerados, a exemplo hipertensão arterial, doença coronariana, diabetes mellitus, obesidade e histórico de infarto do miocárdio. Além disso, fatores genéticos, hábitos de vida como sedentarismo e tabagismo, e condições como apneia do sono também desempenham papéis importantes (Macdonagh *et al.*, 2023).

A deficiência de ferro é uma comorbidade com alta prevalência na ICFEr, devendo ser pesquisada por meio da saturação de transferrina e ferritina ou ferropenia. Tal condição acomete tanto os anêmicos como não anêmicos, levando a alterações no transporte (hemoglobina) e armazenamento (mioglobina) de oxigênio alterações no funcionamento das mitocôndrias, que são constituídas de proteínas à base de ferro, cuja disfunção mitocondrial e tem relação com a hipertrofia e disfunção ventricular, levando a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) com potencial oxidante e inflamatório, e ainda com associação ao risco de hospitalização na IC (Pereira & Beck-da-Silva, 2021; Scolari *et al.*, 2018; Macdonagh *et al.*, 2023).

O tratamento da ICFEr tem o objetivo de aliviar os sintomas, retardar a progressão da doença, melhorar a qualidade e a expectativa de vida. No manejo farmacológico a terapia para o sistema neuro-hormonal convencional é baseada em inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA), bloqueadores dos receptores de angiotensina (BRA), beta-bloqueadores e antagonistas dos receptores de mineralocorticoides (ARM). E ainda, O inibidor do SGLT2 (dapagliflozina ou empagliflozina) é recomendado em pacientes com ICFEr para reduzir o risco de hospitalização por IC ou morte por doença cardiovascular (Vaduganathan *et al.*, 2020).

Assim, terapias por intervenção cirúrgica têm sido associadas ao tratamento medicamentoso nos casos mais graves, de forma que as terapias de ressincronização cardíaca, de intervenção coronária e estrutural, da cirurgia cardíaca coronária ou valvular, transplante cardíaco ou os dispositivos de assistência ventricular de longa duração tem sido considerados importantes (Timóteo *et al.*, 2020).

As terapias não farmacológicas têm sido consideradas fundamentais para o manejo ICFEr, recomendando-se a modificação dos hábitos alimentares, controle de peso e a prática de exercícios físicos supervisionados (Macdonagh *et al.*, 2023). Nesse sentido, recomenda-se a reabilitação cardíaca baseada no exercício, o estudo de Kamiya e colaboradores (2021) observou fatores de proteção quanto as taxas de risco para mortalidade e reinternação relacionadas a IC.

I.2.2 O Período Pericirúrgico da ICFEr

Pacientes com ICFEr com disfunção avançada do ventrículo esquerdo (VE) podem ter como parte do tratamento a cirurgia cardíaca, porém são procedimentos cirúrgicos cardíacos complexos e de alto risco nesses pacientes devido ao aumento da mortalidade cirúrgica, a exemplo da revascularização cirúrgica. Entretanto, o avanço nas técnicas e a preservação do miocárdio tem reduzido a mortalidade perioperatória (Mahesh *et al*, 2016).

A revascularização do miocárdio é recomendada em pacientes com comprometimento grave do VE e que sofrem com a síndrome coronariana crônica, contudo apresenta um risco significativamente maior ao óbito no período pericirúrgico em ICFEr quando comparados aos que não tem a doença, mas necessitam da cirurgia de revascularização (Smilowitz *et al*, 2021).

A estenose aórtica (EA) é a lesão valvar mais comum entre a população em envelhecimento contínuo, tem efeito sobre a fração de ejeção do ventrículo esquerdo intensa. Nestes casos, onde há estenose aórtica ou regurgitação tricúspide pode haver a necessidade de troca valvar em pacientes com ICFEr, contudo não há ainda definição clara dos pacientes a serem tratados de forma conservadora (medicamentosa) ou os que precisam de intervenção cirúrgica (Karakanas *et al*, 2022).

Por esse motivo, há uma condição dupla: a gravidade do procedimento e a consideração atual que estas intervenções podem ser benéficas e seguras, proporcionando alívio dos sintomas e melhorando a qualidade de vida nos pacientes. Contudo, Rudolph e Colaboradores (2024) alertam que não ficam estabelecidos benefícios prognósticos claros em termos de sobrevida ou taxas de reinternação e apresenta estudos de acompanhamento do pericirúrgico no seu estudo.

I.3 Aspectos Nutricionais na IC

Pacientes com insuficiência cardíaca (IC) isquêmica e não isquêmica apresentam níveis elevados de biomarcadores inflamatórios que resultam em piora da IC, podendo ser advindo de uma remodelação cardíaca mediante ativação do sistema imune pelo estresse mecânico contínuo por excesso de tensão crônica (Zhang *et al*, 2017; Frantz *et al*, 2018).

Ou seja, a inflamação da IC pode levar a produção de citocinas inflamatórias que podem aumentar a produção Espécies Reativas de Oxigênio (ROS), levando a um desequilíbrio, e assim, ao estresse oxidativo. Este, por sua vez, pode ativar as vias de sinalização inflamatória gerando um ciclo que pode promover a progressão da IC (Huang *et al*, 2021).

Em pacientes com IC e excesso de peso/obesidade há um aumento de citocinas pró-inflamatórias (TNF α e IL6), condição que se relaciona a taxas de sobrevivência mais baixas. Estas condições podem ser moduladas por micronutrientes como vitaminas e minerais (Sunkara; Haising, 2019; Frantz *et al*, 2018).

Na IC é relevante identificar os fatores de risco e de fragilidade nos pacientes, sendo recomendada a prevenção da IC pela indicação/recomendação da adoção de hábitos de estilo de vida saudáveis, como manter atividade física regular, manter o peso normal e uma dieta saudável, além de que a pressão arterial deve ser controlada de acordo com as diretrizes de prática clínica (Heidenreich *et al*, 2022).

E ainda, pacientes diagnosticados com IC, mesmo que com sinais e sintomas leves, ainda podem ter um alto risco de hospitalização e morte, e se associados com alteração de índice de massa corporal (IMC) e elevação da hemoglobina glicada bem como uma baixa taxa de filtração glomerular, aumenta-se o risco para hospitalizações por IC. Já a fragilidade está associada a um maior risco de morte, hospitalizações e declínio funcional, a exemplo da sarcopenia, assim sendo, pessoas com IC têm até seis vezes mais chances de serem frágeis, e pessoas frágeis têm um risco significativamente maior de desenvolver IC (McDonagh *et al*, 2022).

O estresse oxidativo tem sido implicado na doença cardiovascular, e de forma mais específica, em virtude das espécies reativas de oxigênio (ROS), as quais modulam as vias de sinalização relacionadas à modulação fenotípica, migração e adesão, contratilidade, proliferação e hipertrofia, angiogênese, estresse do retículo endoplasmático, apoptose e senescência contribuindo assim, nas doenças cardiovasculares, incluindo aterosclerose, lesão de isquemia-reperfusão, cardiomiopatia e insuficiência cardíaca (Brown *et al*, 2015)

As enzimas e os compartimentos subcelulares que normalmente produzem ROS estão associados à regulação metabólica, e as doenças associadas à disfunção metabólica podem ser influenciadas por alterações no equilíbrio redox, havendo influência sobre a regulação de doenças metabólicas/inflamatórias, incluindo aterosclerose, diabetes mellitus e acidente vascular cerebral. Assim, é fundamental o desenvolvimento de terapias anti-oxidativas para auxiliar no tratamento das doenças cardiovasculares, incluindo a intervenção dietética permite uma melhor combinação de vários alimentos e nutrientes implicando num efeito cardioprotetor. (Forest *et al*, 2018; Casas *et al*, 2018).

Nesse sentido, o equilíbrio nutricional e ingestão de micronutrientes como as vitaminas A, D, C, E, B6, B12 e folato e os minerais, ferro, zinco, cobre, selênio e magnésio são capazes de fortalecer a imunidade contra doenças infecciosas, de reduzir a cascata inflamatória e o

estresse oxidativo (Gombart *et al*, 2020). Assim como, a redução de ácido graxo saturado, menor teor de gordura na dieta, com os ajustes de forma equilibrada entre carboidratos, lipídeos e proteínas geram efeitos de proteção influenciadores na redução do risco de doença cardiovascular (Teo & Rafiq, 2021).

De forma mais direta, alterações na B12 podem levar ao aumento da homocisteína plasmática (Hcy), que por sua vez é documentada e utilizada na prática clínica como fator de risco cardiovascular, na saúde vascular, renal, cognitiva, óssea e ocular. Assim sendo, o monitoramento nutricional rotineiro associado ao consumo adequado de B12, bem como a relevância da detecção e tratamento precoce da deficiência subclínica foram consideradas como forma de prevenção das doenças do coração (Mohan *et al*, 2023).

Ainda nesse aspecto, McCaddon e Regland (2021) apontam a hipótese que o estresse oxidativo produzido por vírus aumenta a demanda do grupo metil induzindo ao déficit de B12. Tais pesquisadores alertam ainda que esta condição influencia na fadiga, na confusão mental e encefalopatia. Embora as infecções virais geralmente levem a uma desregulação importante das respostas imunológicas, estratégias neuromodulatórias que podem diminuir a inflamação excessiva e seus efeitos prejudiciais podem mostrar efeitos benéficos no adjuvante tratamento e até prevenção de infecção (Castelo-Branco & Fregni, 2020).

Outros micronutrientes estão relacionados com as doenças cardiovasculares, como o selênio e o magnésio. O selênio (Se) é um oligoelemento que tem relação com a resposta imune adequada, confere proteção contra o estresse oxidativo e contra as doenças cardiovasculares (Schomburg, 2021). Assim, os níveis baixos de Se estão associados a taxas mais altas de mortalidade por insuficiência cardíaca, taxas aumentadas de infarto do miocárdio e cardiomiopatia, doença coronariana e aterosclerose (Shimada *et al*, 2021).

O magnésio (Mg) é um mineral que está relacionado à tríade cardiovascular-músculo-osso, assim baixos níveis de ingestão estão associados à doenças cardiovasculares, hipertensão arterial sistêmica e acidente vascular cerebral, síndrome cardiometabólica, diabetes *mellitus* tipo 2, síndromes constritivas das vias aéreas e asma, depressão, condições relacionadas ao estresse e distúrbios psiquiátricos, doença de *Alzheimer* e outras síndromes demenciais, doenças musculares (dor muscular, fadiga crônica e fibromialgia), fragilidade óssea e osteoporose, câncer e sarcopenia (Pickiering, 2021; Barbagallo *et al*, 2021).

Enquanto a hipomagnesemia acomete em torno de 20% dos pacientes internados levando a desregulações da função vascular e risco de arritmia, o magnésio em níveis mais altos (hipermagnesemia) também tem uma predisposição negativa, foi associada com aumento da

mortalidade em um ano após o internamento de pacientes do estudo de uma coorte retrospectiva com mais de 65 mil pacientes (Cheungpasitporn *et al*, 2022).

Os minerais podem contribuir para prevenir e tratar a sarcopenia, a perda de massa muscular, força muscular e desempenho físico relacionada à idade, em especial magnésio, selênio e cálcio parecem ser os mais promissores (Van Dronkelaar *et al*, 2018). A sarcopenia é um distúrbio musculoesquelético associado à incapacidade física, envelhecimento, quedas, fratura, hospitalização má qualidade de vida e depressão. Tal condição leva a uma perda da massa e função muscular (Pickiering, 2021).

Além disso, as sequelas musculoesqueléticas envolvem fraqueza ocasionada pela sarcopenia e perda de força muscular em resposta a infecção viral, imobilidade e nutrição insuficiente e possíveis agravos de múltiplos sistemas (Nogueira, *et al*, 2021; Braz, 2021) remetem a relevância da avaliação nutricional e acompanhamento alimentar dos pacientes.

Considerando a elevada proporção de internamentos por doença cardiovascular e que pacientes em ambiente hospitalar podem apresentar desnutrição hospitalar, tanto em adultos como em idosos, sendo considerada uma síndrome pela associação do aumento substancial da morbidade, recuperação prejudicada da doença, ingestão inadequada de nutrientes que não atende às necessidades fisiológicas do paciente e da resposta inflamatória sistêmica relacionada à doença. Portanto, pesquisas na área têm sido consideradas relevantes, pelo uso ideal da terapia nutricional individualizada para prevenir e tratar efetivamente a desnutrição (Barbosa-Ferreira & Oliveira, 2022; Schuetz *et al*, 2021; Espen, 2022).

O suporte nas Unidades de Terapia Intensiva (UTI) para pacientes críticos e a sobrevida requer uma assistência em um período relativamente curto. Assim, com vistas a evitar inflamação persistente de baixo grau e catabolismo protéico, um estado referido como Síndrome do Catabolismo Inflamatório Persistente (PICS), o suporte nutricional e suplementação adaptados à etiologia e estágio de recuperação de pacientes em UTI pode melhorar a condição metabólica, diminuir a morbidade, e otimizar o sucesso da reabilitação a longo prazo (Moore *et al*, 2017; Singer, 2019).

Thomas e Colaboradores (2021) alertam que pacientes hospitalizados ou gravemente enfermos correm maior risco de desnutrição, e a avaliação e o tratamento rápidos do estado nutricional deficiente podem afetar os resultados clínicos, e ainda, que em doenças infecciosas graves o componente nutricional é comumente negligenciado.

Nesse contexto, condições clínicas, como falência cardíaca, câncer, doença renal crônica, doença respiratória de caráter infeccioso (como Covid-19), tem potencial efeito de modulação por meio da terapia nutricional em ambiente hospitalar (Schuetz *et al*, 2021).

Estudo prévio realizado por Yang e colaboradores (2019) avaliou o impacto do efeito nutricional de pacientes idosos acompanhados no internamento hospitalar com pneumonia e desnutrição. Observaram que os pacientes melhoraram o quadro clínico e reduziram o reinternamento.

Há evidências crescentes de estudos randomizados mostrando que o suporte nutricional reduz significativamente a mortalidade na população de pacientes internados com risco nutricional. Os estudos com estratégias de alta proteína e intervenções de longa duração mostraram os efeitos mais fortes (Kaegi-Braun *et al*, 2021).

De acordo com Agostinho e colaboradores (2020) a falência cardíaca está associada a readmissão hospitalar e mortalidade. Assim, em seu estudo observaram que o acompanhamento dos pacientes pós-internamento reduziu a readmissão, a mortalidade e aumentou a qualidade de vida autorrelatada pelos pacientes.

I.4 Relação entre a Insuficiência Cardíaca com Fração de Ejeção Reduzida, a vitamina B12 e o consumo de *Chlorella pyrenoidosa*

I.4.1 A vitamina B12 e sua Influência sobre o Cérebro e a IC

A B12, também conhecida como cobalamina, é uma vitamina hidrossolúvel e faz parte do grupo das vitaminas do complexo B, é um elemento não sintetizado pelo nosso organismo e presente em alimentos de origem animal (Batista *et al*, 2021). Adicionalmente, em nível mundial a deficiência de vitamina B12 é descrita como sendo muito comum, mais especificamente nos países da América Latina, onde observou-se uma prevalência de 40% de deficiência ou deficiência subclínica desta (Green *et al*, 2017; Hysing *et al*, 2022). O nível do ácido metilmalônico é um marcador específico e sensível para a deficiência de B12, portando, sendo indicado como "padrão ouro" para diferenciação da deficiência (Green *et al*, 2017 e Paniz *et al*, 2005).

A cobalamina participa da regulação e síntese de DNA, atua na supressão de fatores inflamatórios, participa do metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas. A sua deficiência pode acarretar alteração em múltiplos sistemas e induzir vários sinais e sintomas, como: neuropatias, depressão, delírio, psicoses, redução na cognição, vasculopatia renal e pulmonar, distúrbios do sono, fadiga, sintomas semelhantes à fibromialgia, alterações hematológicas (anemia megaloblástica, redução de hemoglobina, plaquetopenia) (Langan *et al*, 2017; Batista *et al*, 2021; Hysing *et al*, 2022).

A deficiência de B12 leva a transtornos de caráter hematológicos, neurológicos e cardiovasculares. Assim sendo, esta deficiência inibe a função da metionina sintase e da L-metilmalonil-coA mutase, gerando aumento da homocisteína e comprometendo as reações de metilação, as quais estão relacionadas ao desenvolvimento de patologias principalmente cérebro e cardiovasculares de diferentes graus de severidade, podendo até mesmo tornarem-se irreversíveis (Paniz *et al*, 2005; Batista *et al*, 2021).

Além disso, há ainda a “hipótese da homocisteína”, cujo aumento da concentração de homocisteína aumenta em virtude da deficiência de B12, desencadeando alterações cardíacas e doença arterial oclusiva, especialmente no cérebro, coração e rim, além de trombose venosa, se estendendo para a função cognitiva, Alzheimer e demência, acometendo desde crianças até adultos (Kennedy 2016; Zaric *et al*, 2019).

O acúmulo de homocisteína pode induzir estresse celular, apoptose e homocisteinilação de proteínas funcionais no sangue e tecidos e acidose metabólica. A disfunção endotelial induzida por hiper-homocisteinemia (HHcy) desempenha um papel crítico na patologia vascular, sendo considerada um fator de risco para aterosclerose e doença cardiovascular (DCV), com comprometimento da função endotelial e ativação do estresse oxidativo (Esse *et al*, 2019; Wu *et al*, 2018).

A homocisteína (Hcy) é um o aminoácido não proteínogênico, que ocorre naturalmente em todos os seres humanos, a partir do metabolismo do aminoácido essencial metionina. A Hcy é degradada no corpo através de duas vias metabólicas, enquanto uma pequena parte é excretada pelos rins. A degradação e os níveis da Hcy requerem a presença de ácido fólico, vitaminas B6 e B12. (Zaric *et al* 2019).

Ademais, Hernandez-Landero e Colaboradores (2022) observaram que os níveis elevados de homocisteína (Hcy) têm sido associados a um maior risco de doenças cardiovasculares e neurodegenerativas, com associação a desmetilação passiva do DNA. E ainda, que alterações no IMC e o nível elevado de Hcy foi maior em mulheres e nos homens a associação da hiper-homocisteinemia foi relacionada ao consumo elevado de proteína e em especial de metionina.

Ainda no que se refere aos efeitos da Hcy elevada, observa-se que tem efeitos deletérios sobre a função cardíaca, uma vez que sua elevação afeta o sistema vascular e para tal afeta diretamente a função cardíaca e leva a alteração do estado geral dos paciente com IC (Piquereau, *et al*, 2022)

Guest e colaboradores (2015) indicam que a terapia com vitamina B12 reduz o dano oxidativo e os níveis de inflamação, tanto sistemicamente quanto no sistema nervoso central,

especialmente associados ao folato, e melhora a doença microvascular associada à hiperhomocisteinemia. de forma associativa, Van de Laemaat e colaboradores (2019) observaram que dentre as potenciais propriedades antioxidantes da B12 estão: eliminação e estímulo a eliminação dos ROS, modulação da citocina e do fator de crescimento e ainda redução do estresse oxidativo causado por produtos finais de glicação avançada.

Por uma outra perspectiva, Hosain e Colaboradores (2022) alertam para o papel da B12 na homeostase e saúde intestinal, onde 80% das bactérias intestinais são dependentes da ingestão de B12 para suas reações metabólicas, ou seja, a B12 interfere na biota, bem como na estrutura das vilosidades. E ainda, há achados recentes que associam a modulação da microbiota intestinal como potenciais estratégias terapêuticas preventivas para doenças cardíacas inflamatórias (Tschöpe *et al*, 2021).

Em oposição, o estudo de Van der Wal (2015) apontou que a deficiência de vitamina B12 e folato é relativamente rara em pacientes com IC crônica e concluíram que devido à ausência da associação significativa ativa entre o volume corpuscular médio e os níveis de vitamina B12 ou ácido fólico esse índice celular deve ser usado com cautela no diagnóstico diferencial de anemia em pacientes com IC crônica.

I.4.2 Aspectos físico-químicos e biológicos da *Chlorella pyrenoidosa*

A cultura de microalgas em grande escala para produção de biomassa, tanto para uso na elaboração de alimentos, tem crescido em todo o mundo, uma vez que vários compostos podem ser relacionados a estas, como: ácidos graxos poli-insaturados, carotenóides, ficobilinas, polissacarídeos, vitaminas, esteróis e diversos compostos bioativos naturais (como antioxidantes e redutores do colesterol), compondo as microalgas ao grupo dos alimentos funcionais (Derner *et al*, 2006; Rasheed *et al*, 2020).

Há mais de cinquenta mil tipos de espécies de microalgas, das quais trinta mil foram estudadas e dentre estas destacam-se no mercado farmacêutico a *Chlorella sp.* e a *Spirulina sp.*, e ainda, além dos inúmeros nutrientes observados apontam as vitaminas na condição moléculas encontradas de forma ampla nas microalgas com ações com ações antioxidante e neuroprotetoras, dentre estes as principais são: vitamina C, K, B12, A e α -tocopherol (Mesadri *et al*, 2021).

No grupo das microalgas, existe o *Filo Chlorophyta* e neste há o gênero *Chlorella* – palavra oriunda do grego *chloro* (verde); e do sufixo diminutivo latino *ella* (pequeno) - no qual existem várias espécies (*C. vulgaris*, *C. ellipsoidea*, *C. saccharophila*, *C. sorokiniana*, entre

outras) incluindo a *Chlorella pyrenoidosa*, sendo um organismo verde, unicelular de água doce e eucarionte (Viegas, 2010).

A *Chlorella* sp. apresenta na composição ácidos graxos poliinsaturados, o ácido docosahexaenóico (DHA, 22:6, n-3), o ácido eicosapentaenóico (EPA, 20:5, n-3), ácido araquidônico (ARA, 20:4, n-6) e os ácidos-linolênicos (ALA, 18:3, n-3), carotenóides sendo fonte de B12, cujos benefícios à saúde estão relacionados no tratamento de doenças cardiovasculares e no desenvolvimento de células cerebrais, sendo considerados os seus benefícios nutricionais e de aplicação farmacêutica (White & Gurney, 2024; Bito *et al*, 2020).

Mais especificamente, *Chlorella pyrenoidosa* é uma fonte alimentar com elevada proporção de proteína (57% de proteína, 2% de gordura, 26% de carboidratos, 2% de fibras, 10% de minerais e vitaminas – composição seca), sendo esta, uma composição que a coloca na condição de alimento funcional, pois apresenta um variedade de funções biológicas, incluindo antioxidante, anti-hipertensivo, anti-inflamatório, imunomodulador, antidislipidêmico, antidepressor, antidiabético, antitóxico, bem como cicatrizante e propriedades quimio-preventiva, devido aos vários compostos fenólicos, vitaminas e minerais (Viegas, 2010; Chiu & Lee, 2021).

Ademais, estudo analisou extratos *C. pyrenoidosa* em laboratório e obteve achados de alto teor de proteína, perfil completo de aminoácidos, como também a atividade antioxidante significativa, apresentando uma característica de antioxidante natural (Machado *et al*, 2017).

I.4.3 Efeitos positivos da *Chlorella pyrenoidosa*

As vitaminas B tem efeitos numerosos sobre a função cerebral e cardíaca, no entanto, existe o problema, principalmente em países subdesenvolvidos, relativos à deficiência dessas vitaminas (Kennedy, 2016; Rahman, Baumgartner, 2019). Mais especificamente sobre a B12 (cobalamina) há uma relação com a modulação de processos inflamatórios, inclusive em nível de intestino e a relação com a saúde cardíaca, hematológica e cerebral (Hossain *et al*, 2022; Paniz *et al*, 2005).

A hiperhomocisteinemia já é considerada um dos maiores riscos neudegenerativos, cardiovasculares e indutor de inflamação em idosos (Tawfik *et al*, 2021). O nível de homocisteína total no soro é influenciado pela presença ou ausência das vitaminas B6, B12 e ácido fólico. Pode causar hiperhomocisteinemia e pode haver homocistinúria, afetando órgãos-alvo, como coração e cérebro (Zaric *et al*, 2019).

Nessa perspectiva clínica, estudos de intervenção para correção da hiperhomocisteinemia com suplementação de B12 foram realizados, alguns com melhoras da doença, outros com redução da atrofia cerebral (Green *et al*, 2017). Estudos com suplementação de micronutrientes para doenças cardiovasculares, como zinco e selênio, ainda não têm evidências científicas suficientes para sua suplementação na prevenção de doenças cardiovasculares (Gac *et al*, 2021).

Ademais, estudos comprovam que a *Chlorella pyrenoidosa* tem biodisponibilidade de B12, é uma forma natural de suplementação por tratar-se de alimento (Merchant *et al*, 2015; Bito *et al*, 2020). Estudos apontam a relevância da nutrição para redução dos sintomas inflamatórios e da subnutrição nos internados, bem como dos problemas no pós-Covid do caráter da B12, má nutrição, sintomas gastrintestinais e metabólicos. Mais especificamente da utilização de nutracêuticos, cujo consumo é seguro e apresentam baixa toxicidade (Quiles, *et al.*, 2020).

A *Chlorella sp.* é uma microalga, também conhecida como cianobactéria e foi estudada por Fallah e colaboradores (2018) no tratamento de pacientes com risco cardiovascular, a pesquisa observou-se controle da pressão sistólica e diastólica, bem como redução dos níveis de colesterol total e HDL. Haidari e Colaboradores (2018) analisaram o uso da *Chlorella sp.* em mulheres e observaram redução dos níveis de fadiga, dor de cabeça e náuseas (oriundos da dismenorreia), assim como redução dos níveis séricos de marcadores inflamatórios. Assim, a forma ativa da *Chlorella sp.* tem relação positiva com imunomodulação, atividade antioxidante, efeitos contra o diabetes, hipertensão e hiperlipidemia (Bito *et al*, 2020).

Também é indicado seu uso prolongado (pelo menos 3 semanas) com vistas a melhorar o volume de oxigênio máximo, contudo o consumo de 6g/dia em 2 dias em adultos saudáveis indicou melhora das taxas de lactato e consumo de O₂ durante o exercício físico de intensidade submáxima e máxima (White & Gurney, 2024), Queiroz e colaboradores (2016) observaram que a *Chlorella vulgaris* produziu em nível cerebral redução do estresse na ativação hipotálamo-hipófise-adrenal em ratos.

Uma pesquisa em um modelo animal com o uso da *C. pyrenoidosa* em extrato de água quente observou o aumento do tempo de vida útil da enzima a superóxido desmutase (SOD) que faz parte do sistema de defesa enzimático atuando como antioxidante, bem como observou concentrações maiores que as de outros alimentos funcionais (queijo, chocolate e vinho) de feniletilamina, que é um composto amino endógeno traço e um estimulante do Sistema Nervoso Central (SNC) atuando no humor, perda de peso e depressão (Zheng *et al*, 2020).

I.5 Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua de Alta Densidade (HD-tDCS) como Adjuvante Terapêutico nas Doenças Cardíacas

I.5.1 Breve histórico da neuroestimulação

Uma das formas de classificar as técnicas de neuromodulação pode ser pela forma não invasivas ou invasivas do método. Nessa perspectiva moderna, a neuroestimulação que vem evoluindo e se diferenciando por meio de diferentes dispositivos com fins de modular e/ou alterar funções específicas no cérebro ou do sistema nervoso, cujas induções podem ser introduzidas por correntes elétricas produzidas por eletricidade ou por magnetismo (Alves, 2015; Knotkova *et al*, 2019).

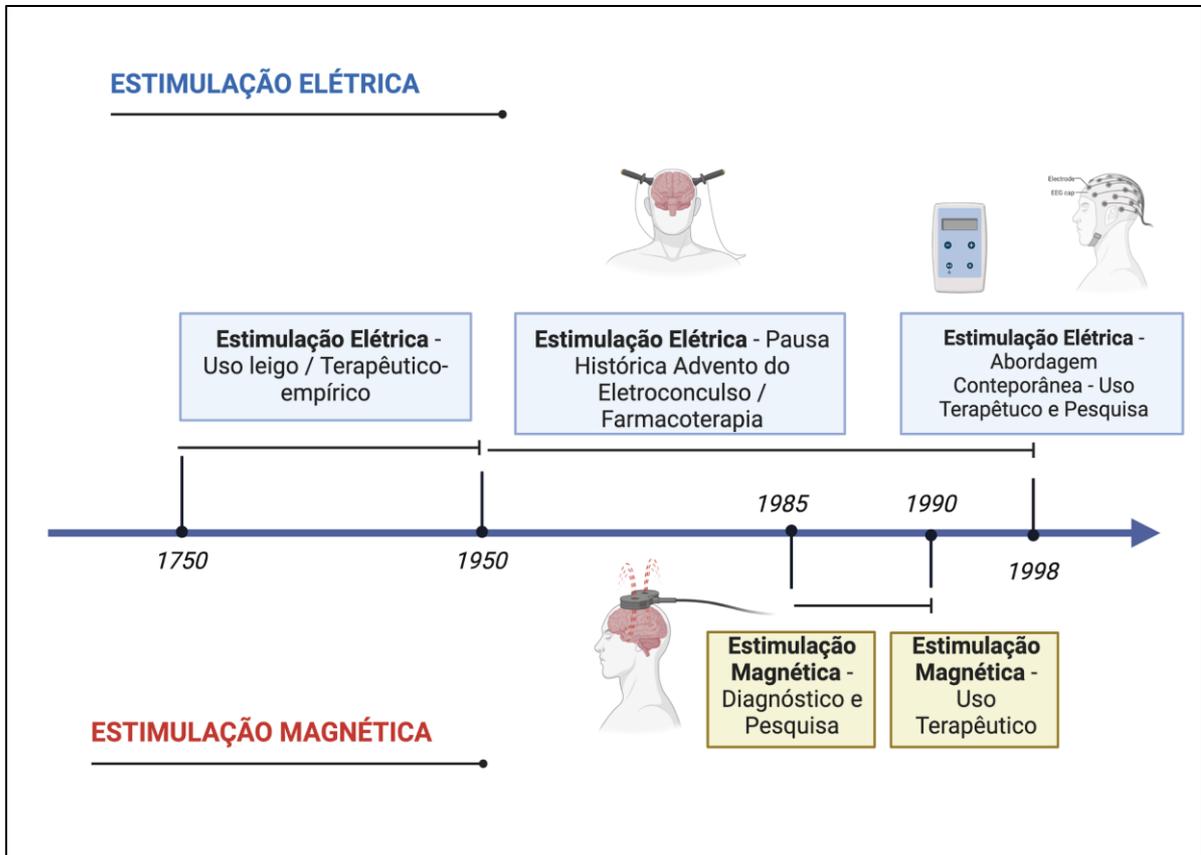
Dessa forma, nos métodos não invasivos estão incluídas Estimulação Magnética Transcraniana (TMS), Estimulação por Ultrassonografia Transcraniana (TUS) e Estimulação Transcraniana Elétrica (tES). Nas tES estão inclusas as técnicas: Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua (tDCS ou ETCC); Estimulação do Nervo Trigêmeo por Corrente Elétrica (TNS); Estimulação Transcraniana por Ruído Aleatório (tRNS); Estimulação repetitiva transorbital por corrente alternada (rtACS), estimulação elétrica transcorneana (TcES), estimulação elétrica transescleral (TsES); (Lenta) estimulação transcraniana por corrente contínua oscilante (so-tDCS), estimulação transcraniana por corrente contínua sinusoidal (ts-DCS); Estimulação transcraniana por corrente alternada (tACS); Estimulação transcraniana por corrente pulsada (tPCS) Estimulação elétrica transcraniana de alta definição (HD-tES), Estimulação transcraniana de corrente contínua de alta definição (HD-tDCS) (Knotkova *et al*, 2019; Gebodh *et al*, 2019).

Assim, para melhor compreensão dos desdobramentos para uso científico e terapêutico da neuroestimulação é necessário compreender o processo histórico e já se sabe que desde as primeiras evidências da existência de eletricidade que há evidências também do uso do choque elétrico em humanos para fins terapêuticos, a exemplo do uso do peixe-torpedo sobre o escalpo para liberar uma corrente elétrica intensa e aliviar a dor de cabeça pelo médico Scribonius Largus, no século I. Porém, entre 1750 e 1950 a eletricidade passa a ser promovida como tratamento e os primeiros estudos, como o de Giovanni Aldini, em 1950, realizado com animais e criminosos recém-executados e descobriu que a eletroterapia poderia ser utilizada para reviver vítimas de afogamento (Schestatsky, 2017).

Durante o século XIX existiram estímulos elétricos em várias partes do mundo, porém em virtude da variabilidade entre eles, houve dificuldade de consolidação de conclusões com aspectos mais efetivos. Já ao longo do século XX, a eletromedicina envolvendo a estimulação

elétrica pulsada tornou-se dominante, com advento da intervenção farmacológica e do eletroconvulso (figura 1) (Vandermeeren *et al*, 2010;).

Figura 1. Marcos Históricos das Fases da Neuromodulação Não-Invasiva



Fonte: Elaboração Própria, BioRender®, 2023; Schestatsky, 2017

No início dos anos 2000, essa pausa histórica terminou, por meio do relatório sobre os efeitos antidepressivos da tDCS. Os pesquisadores Nitsche e Paulus expandiram o impacto do tDCS na excitabilidade do córtex motor primário (M1) uma vez que apresentam uma nova técnica, cujo eletrodo “ativo” posicionado no alvo (M1) e o outro eletrodo, de “referência”, posicionado na órbita contralateral, não utilizando mais um eletrodo extracefálico (vandermeeren *et al*, 2010).

Dados sugerem a tDCS com corrente direta de baixa intensidade, dos anos 2000 em diante, como uma técnica investigativa e terapêutica útil, pode induzir efeitos benéficos em distúrbios cerebrais (psiquiátricos e neurológicos), mais especificamente, em diferentes áreas corticais demonstrou, em vários estudos, resultar em modificações das funções perceptivas, cognitivas e comportamentais, sendo considerada uma ferramenta promissora na neurociência humana e na pesquisa neurocomportamental, uma vez que as descrições dos efeitos no cérebro e na função neural datam desta época (Nitsche *et al*, 2008; Arul-Anadam *et al*, 2009; Knotkova *et al*, 2019).

Ademais, considera-se ao longo do recorte histórico, seus marcos e aprofundamento das pesquisas, num aspecto de caráter mais prático, a estimulação por corrente elétrica contínua como mais atrativa que a estimulação por campo magnético, pelos efeitos corticais e menos efeitos adversos (Schestatsky, 2017).

Foram observados efeitos positivos da tDCS em condições comportamentais, cognitivas e clínicas. A exemplo, melhora no tratamento de doenças como transtorno do déficit de atenção e hipertatividade (70,3%), transtorno do espectro autista (36,3%) e dislexia (57,1%) e sem efeitos colaterais (Alisalehinejad *et al*, 2021). Para a depressão e uso da neuroestimulação por tDCS, há um consenso europeu que indica nível de evidência B a partir dos achados clínicos mais promissores (Moffa *et al*, 2018).

Porém, já há um Consenso Latino-Americano e Caribenho para o manejo da dor crônica por meio da neuromodulação, cujo nível de recomendação é A para estímulo anodal por tDCS ao córtex motor primário (M1) para casos de fibromialgia (Baptista, 2019; Moisset *et al*, 2020).

Apesar do reconhecimento do potencial terapêutico da tDCS convencional para várias condições dolorosas em curso, existem limitações quanto à aplicação da técnica. Sendo assim, à medida que os seus mecanismos de ação são mais bem compreendidos e as tecnologias tornam-se disponíveis, novas abordagens devem ser desenvolvidas ou mesmo aprimoradas, visando estabelecer protocolos mais personalizados e baseados nas necessidades individuais (Morya *et al.*, 2019).

Assim, com vistas à aperfeiçoar a aplicação de corrente direta, introduz-se um novo protocolo, *High Definition Transcranial Direct Current Stimulation* (HD- tDCS), estimulação de alta definição, foi introduzida no cenário das modalidades de neuroestimulação. Trata-se de eletrodos menores, em formato de disco implantados em configuração de anel 4×1 , ou seja, um central e quatro periféricos, formando um halo e permitindo a alta definição no local delimitado, para estímulo mais focal. Então, a HD-tDCS foi introduzida no cenário das modalidades de neuroestimulação, com vistas a otimizar a força de estimulação ou a focalização em várias áreas do cérebro (Kuo *et al*, 2013; Bikson *et al*, 2019).

I.5.2 Propriedades técnicas da HD-TDCS

A Estimulação Transcraniana por Corrente Contínua (tDCS) utiliza-se de dispositivos que conduzem a corrente elétrica para fins de modular a função cerebral (experimental ou clínica). Assim, todos os dispositivos tDCS incluem um estimulador controlado por corrente e eletrodos para posicionar no couro cabeludo e conduzir a corrente. A corrente para estimulação,

portanto, pode ser definida pelo tamanho, posição dos eletrodos, duração e intensidade. Ou seja, a estimulação convencional da tDCS envolve correntes diretas fracas (260 μ A – 2 mA) aplicadas ao couro cabeludo por meio de almofadas retangulares baseadas em esponja (nominalmente 25 – 35 cm²) (Nitsche *et al.*, 2000; Truong; Bikson, 2018).

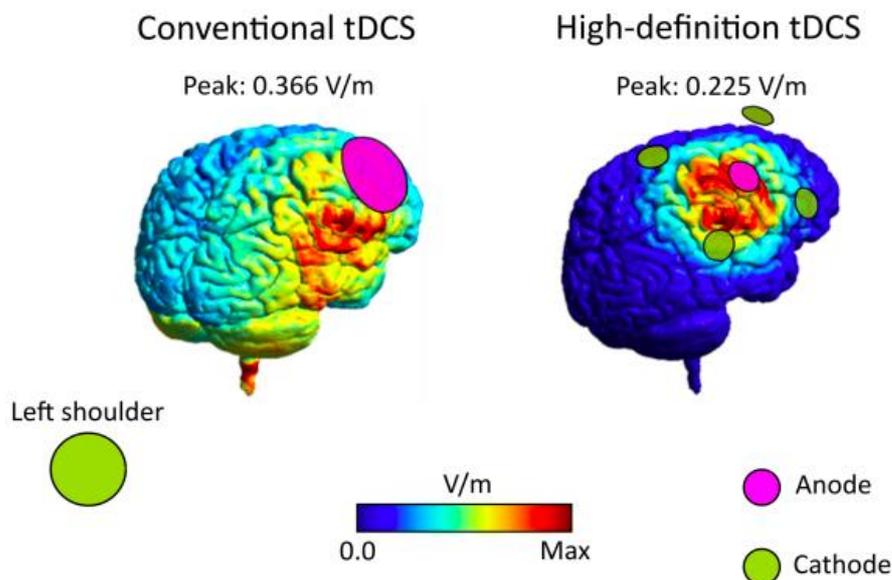
Porém, ao considerar a baixa condutividade do crânio que limita a focalização elétrica, trazendo uma ampla difusão do campo elétrico, a estimulação transcraniana por corrente contínua de alta definição (HD-tDCS) parece superar essa desvantagem do tDCS bipolar tradicional (Datta *et al.*, 2009; Caparelli-Daquer *et al.*, 2012; Mesina *et al.*, 2021).

Dessa forma, a preparação dos eletrodos na HD-tDCS se difere da tDCS, uma vez que o arranjo dos eletrodos passa a ser 4x1, em menor tamanho e de alta definição, em configuração de anel, favorecendo o fluxo de corrente cerebral. Assim, há um eletrodo central cercado por quatro eletrodos de polaridade oposta, que restringe a corrente predominantemente ao córtex circunscrito pelo anel com maior focalidade (Edwards *et al.* 2013; Villamar *et al.*, 2013; Truong; Bikson, 2018). Na figura 2 apresenta-se a simulação do campo elétrico focalizado da HD-tDCS.

Assim, os eletrodos eram de grande dimensão envolvidos em esponjas embebidas em solução salina, que aplicavam uma corrente elétrica difusa estimulando além da área alvo, alcançando regiões indesejadas de forma não previsível, garantindo baixa precisão espacial e menor focalidade na área cortical alvo (Bikson *et al.*, 2010; Datta *et al.*, 2009). Estes foram substituídos por eletrodos pequenos de gel, delimitando a estimulação ao diâmetro dos eletrodos, com melhor direcionamento do fluxo de corrente e níveis desprezíveis em áreas subcorticais (Villamar *et al.*, 2013; Da silva *et al.*, 2011).

Reckow e Colaboradores (2018) investigaram a tolerância da HD-tDCS para fins de segurança e tolerabilidade, principalmente em adultos mais velhos. Identificaram que a HD-tDCS (com 2 a 3 miliampères) foi bem tolerada, sendo indicada para ensaios clínicos. Além disso, o maior número de eletrodos permite maior flexibilidade na montagem e, assim, favorece também na focalidade (Dmochowski *et al.* 2013).

Figura 2. Simulação do Campo Elétrico por tDCS (ânodo: C4; cátodo: ombro esquerdo) e por HD-tDCS (ânodo: C4; cátodos: FC2, FC6, CP2, CP6) representado a Focalidade



Fonte: Masina *et al*, 2021

Entretanto, Ostrowski e Colaboradores (2022) numa metanálise sobre HD-tDCS para avaliar a estimulação catódica observou grande heterogeneidade nos estudos, variação no tamanho dos eletrodos, variação nos tamanhos de efeito, reforçando a necessidade de maiores estudos na área.

I.5.3 Uso da estimulação cerebral nos distúrbios inflamatórios e a doença cardíaca

A Estimulação Transcraniana por Corrente Direta (tDCS) é uma técnica de estimulação elétrica transcraniana para fins de modulação e excitabilidade cerebral, que já foi demonstrada efeito em humanos, sendo denominada como uma técnica neuromodulatória em virtude dos efeitos em processos inflamatórios e de alterações de neurotransmissores (Nistcheet *al*, 2000; Woods *et al*, 2016).

As citocinas estão envolvidas nos processos inflamatórios e desempenham diversos papéis no sistema nervoso central ainda não bem elucidados. Assim, citocinas pró-inflamatórias (a exemplo, IFN- γ , TNF- α e IL-1 β) podem modular a excitabilidade neuronal e os circuitos cerebrais por meio de seus efeitos em vários sistemas de neurotransmissores, estão relacionadas aos envelhecimento do cérebro, podem estar associadas a uma inflamação sistêmica induzida por vírus ou bactérias e ainda estar associada a danos cerebrais a distúrbios psiquiátricos. Dessa forma, há benefícios anti-inflamatórios da tDCS, porém ainda não totalmente elucidados (Ethridge *et al*, 2022).

A estimulação transcraniana por corrente contínua (tDCS) demonstrou benefícios clínicos, como analgesia, efeitos anti-inflamatórios e neuroprotetores em ratos. Foi observado que a tDCS diminuiu a sensibilidade à dor e os níveis cerebrais de TNF- α (Callai *et al*, 2022).

Em seu estudo, Suchting e colaboradores (2020) analisaram amostras de sangue de pacientes adultos com dor crônica portadores de osteoartrite, cujo objetivo versava em usar a tDCS para mensuração de imunidade e estresse. De forma que os níveis de IL-6, IL-10, TNF- α e β -endorfina demonstraram-se mais baixos de no grupo tDCS ativo, fornecendo evidências preliminares de que o tDCS ativo (em relação ao falso) está associado a níveis reduzidos de inflamação.

Já Galvagni e colaboradores (2022) identificaram em seu estudo que tDCS (estimulação transcraniana por corrente contínua), por ser neuromoduladora, pode alterar a síntese de proteínas, inclusive de citocinas, mais especificamente alterando o caráter pró-inflamatório em animais, modificando assim, comportamentos. Entretanto, reforça a necessidade de mais estudos para estabelecer os mecanismos envolvidos na ação do tDCS sobre os níveis de citocinas pró-inflamatórias.

Ainda, Guo e Colaboradores (2022) investigou o potencial da tDCS no comprometimento cognitivo de uma demência vascular (DV) em um modelo animal. Identificaram que a estimulação por corrente contínua (ETCC) anódica pode inibir expressão de IL-1 β , IL-6 e TNF- α induzida por hipoperfusão para atenuar a inflamação resposta no hipocampo. Identificaram ainda um possível papel terapêutico da ETCC no tratamento de comprometimento cognitivo em DV (Guo *et al*, 2020).

A proteína C-Reativa (PCR) também foi analisada como um marcador inflamatório em pacientes com disfagia pós-acidente vascular cerebral de tronco encefálico os quais foram neuroestimulados por tDCS por oito semanas. Estes apresentaram melhora nas escalas de disfagia e da PCR (Mao *et al*, 2022).

A tDCS foi considerada segura e eficaz em estudos do sistema cardiovascular (Lee *et al*, 2017; Vandermeeren *et al*, 2010). Ademais, observou-se ainda que pacientes com sequelas de acidente vascular cerebral neuroestimulados tiveram melhora do padrão respiratório, melhorando o volume respiratório forçado e da capacidade vital forçada (Lee *et al*, 2017).

Ademais, Ramalho e Shah (2020) reforçam sobre a evolução de técnicas não invasivas para tratamento da doença cardíaca e pulmonar. Nessa mesma perspectiva, tem-se utilizado a estimulação elétrica transcraniana para fins de modulação e excitabilidade cerebral em humanos, cuja técnica induz o estímulo cortical e alteração da atividade por meio do fluxo da corrente através dos neurônios-alvo, modulando, assim, dentre outros efeitos, processos

infamatórios e alterações de neurotransmissores, sendo considerada uma técnica neuromodulatória (Woods *et al*, 2016).

Observa-se ainda uma relação bidirecional entre transtornos afetivos e anormalidades cardiovasculares, assim sendo, transtornos depressivos maiores (TDM e transtornos de ansiedade) aumentam significativamente o risco de desenvolver doenças cardiovasculares (DCV). E, a variabilidade da frequência cardíaca (VFC) tem sido frequentemente sugerida como um potencial mediador nessa comorbidade (Kidwell; Ellenbroek, 2018).

Não obstante, tDCS é proposta recentemente uma recomendação de Nível B para uso em pacientes deprimidos pelo Consenso Europeu, devido à sua capacidade de modular a excitabilidade cortical e induzir efeitos duradouros e frete a citocinas inflamatórias (Bennabe; Haffen, 2018). De forma mais específica, segundo Da Silva *et al.* (2011), podem existir a modificação dos sintomas comportamentais após HD-tDCS no M1 por meio de modulação secundária de outras áreas, como núcleos talâmicos, córtex cingulado e córtex insular.

Considerando a fisiopatologia do SARS-CoV-2 e sua relação com o sistema neuroimune, equilíbrio autonômico, sintomas musculoesqueléticos e respiratórios, neuropsiquiátricos e cardíacos apresentados pelos pacientes, destacamos o uso potencial de métodos não invasivos de neuromodulação para avaliação de eficácia no tratamento de pacientes com COVID-19, visto que essas técnicas podem ser úteis no manejo de aspectos clínicos importantes na recuperação funcional dos indivíduos afetados pela doença (Baptista *et al.*, 2020).

Assim, Andrade e Colaboradores (2022), utilizaram a neuroestimulação por HD-tDCS em pacientes com Covid-19, em seus achados observaram um tempo maior fora do respirador nos pacientes neuroestimulados, sendo considerado um potencial adjuvante terapêutico em pacientes críticos com doença pulmonar aguda. Mais ainda, observaram redução de disfunções orgânicas (como cardiovascular) nos pacientes neuroestimulados.

De forma complementar, há estudos indicando a neuroestimulação para diferentes aplicações clínicas, com a proposta inclusive de um número reduzido de sessões por tDCS. Reforça-se ser uma alternativa de baixo custo e que proporciona bem-estar aos pacientes, sendo, portanto, necessários estudos para melhor compreensão da utilização na prática clínica (Callai *et al*, 2022).

I.5.4 Efeito *Priming* da HD-tDCS para a Cirurgia Cardíaca

Há evidências que direcionam fortemente para a relação do eixo cérebro coração, o qual é composto por múltiplas áreas interrelacionadas. Ocorre que existem áreas no cérebro

(amígdala, ínsula, tálamo, hipotálamo e córtex pré-frontal) emitem sinais sinápticos os quais são transmitidos pelo Sistema Nervoso Autônomo (SNA) simpático e parassimpático para o plexo ganglionar autonômico, sendo esta a regulação cardíaca intrínseca, compostas por neurônios aferentes, neurônios motores, interconectando com neurônios de circuitos locais, os quais podem expressar imunorreatividade (Waldron *et al*, 2019; Gu *et al*, 2022).

Nesse sentido, a IC leva a hiperatividade simpática desempenha um papel significativo da doença cardíaca, mais especificamente na cardiovascular. Sabe-se que há medicamentos antagonistas da hiperatividade simpática, porém as terapias de neuromodulação vêm sendo gradualmente utilizadas para o tratamento da IC (Liu *et al*, 2022).

A partir desta perspectiva, e ainda que a cirurgia cardíaca, principalmente a que requer uma técnica de circulação extracorpórea, leva a reações inflamatórias e com consequências clínicas (Güntürk *et al*, 2024) aborda-se o racional teórico dos estudos tipo *priming* no campo da neurostimulação.

A utilização do *priming* para estudos de neuroestimulação referem-se a um estímulo ao cérebro num ponto do tempo influenciando os resultados em um posto posterior a partir de uma intervenção subsequente e assim, podendo levar a interações metaplásticas, ou seja, levando a incorporação de mecanismos regulatórios homeostáticos para manter a plasticidade dentro de uma faixa fisiologicamente útil. Há estudos observaram as interações metaplásticas de *priming* e de tDCS (Hurley & Machado, 2017).

Logo, o *priming* na tDCS induz um mecanismo de metaplasticidade, de forma que a plasticidade da sinapse no período da intervenção é influenciada pelo estímulo *priming* que aprimoram o estímulo sequente (De Smet *et al*, 2024).

O estudo de Bian e colaboradores (2024) utilizou o HD-tDCS como *priming* para sequencial estímulo magnético em pacientes após acidente vascular cerebral, com vistas a observar pré-condicionamento (*priming*) com a HD-tDCS para potencializar a plasticidade cortical induzida pela estimulação de rajada teta intermitente (iTBS) e observaram resultados favoráveis para recuperação motora dos pacientes.

II DESENHO DA INVESTIGAÇÃO

II.1 Justificativa e Apresentação do Problema

Pacientes com IC têm sido hospitalizados com quadros mais agravados da doença, necessitando de cuidados intensivos, com uma proporção mais elevada em idosos, constituindo uma das principais causas de mortalidade global, direcionando assim, a necessidade de mais estudos na área para favorecer o cuidado clínico adequado (Katz *et al*, 2016; Mensah, 2019). Ademais, devido ao envelhecimento da população associado às doenças crônicas como obesidade e diabetes, estima-se que a Insuficiência Cardíaca atinja mais de 60% dos internamentos na próxima década (Harris *et al*, 2020).

E ainda, no agravamento da ICFEr, fração de ejeção $\geq 35\%$, há indicação à cirurgia cardíaca e, mediante resultados perioperatórios diversos devido às várias considerações metodológicas, cabem estudos que conduzam um conjunto de dados favorável ao manejo perioperatório e de cuidados na IC (Smilowitz *et al*, 2021). Bem como, formas de avaliação que integrem outros órgãos e sistemas para contribuir com melhoria na qualidade de vida, na terapia e no prognóstico de pacientes com ICFEr (Barbosa-Ferreira, 2022).

Pacientes em estados mais graves cujos órgãos-alvo estão acometidos (doença aguda ou crônica presente) com uma cascata inflamatória presente, mais especificamente os pacientes em UTI, os quais por vezes, são ressuscitados com vasopressores ou estão em uso de agentes bloqueadores neuromusculares ou apresentam quadro de septicemia, devem iniciar uma conduta nutricional trófica precoce para fins de otimizar o resultado clínico, bem como ter uma terapia nutricional individualizada para evitar o consumo inadequado, proteólise, deficiência de micronutrientes e sarcopenia (Aspen, 2017; Kaegi-Braun *et al*, 2021; Wischmeyer, 2021).

Além disso, as sequelas musculoesqueléticas envolvem fraqueza ocasionada pela sarcopenia e perda de força muscular em resposta a infecção viral, imobilidade e nutrição insuficiente e possíveis agravos de múltiplos sistemas (Nogueira, *et al*, 2021; Braz, 2021) E, remetem, assim, a relevância da avaliação nutricional e acompanhamento alimentar nos pacientes em nível ambulatorial, pelos problemas crônicos.

Estudos apontam a importância da nutrição para redução dos sinais e sintomas inflamatórios e da subnutrição nos internados, bem como dos problemas do caráter da B12, má nutrição, sintomas gastrintestinais e metabólicos. Mais especificamente da utilização de nutracêuticos, cujo consumo é seguro e apresentam baixa toxicidade (Quiles, *et al.*, 2020).

De forma análoga, estudos indicam que a *Chlorella pyrenoidosa* é uma microalga e tem sido usada como alimento, mais especificamente como alimento funcional. É rica em proteína, B12, selênio, entre outros nutrientes. E seu consumo está relacionado a proteção cardiovascular pela redução da pressão sanguínea; tem ação antioxidante e desintoxicação hepática, efeito imunomodulador (também em resposta às infecções virais); age contra a depressão e tem efeito sobre o controle glicêmico (Kwak *et al*, 2012; Bito *et al*, 2020).

Uma outra terapia adjuvante e não invasiva para o manejo da disrupção inflamatória associada às doenças cardiovasculares, é estimulação por corrente contínua, como um recurso de fácil manejo, baixo custo e segura (Datta *et al.*, 2009; Callai *et al*, 2022).

Assim sendo a tDCS anódica foi associada a atenuação do processo inflamatório pela modulação da expressão de IL-1 β , IL-6 e TNF- α induzida por hipoperfusão, bem como citocinas e interleucinas, num processo de modulação da inflamação (Guo *et al*, 2020; Gavalgani *et al*, 2022).

Nesse sentido, pesquisas observaram que a HD-tDCS induz efeitos neurofisiológicos e clínicos significativos em indivíduos saudáveis e pacientes, caracterizando-se por ser uma estimulação segura, confortável e com boa tolerabilidade (Minhas *et al.*, 2010; Edwards *et al.*, 2013), prometendo uma maior eficácia que a técnica convencional (Morya *et al.*, 2019) e utilizada como *priming* com efeito metaplástico (Bian *et al*, 2024).

Resumidamente, uma vez que a ICFEr também está associada a alterações no sistema nervoso central, mais especificamente relacionadas ao Sistema Nervoso Autônomo, o emprego de corrente elétrica não invasiva pode atuar os fatores inflamatórios como *priming* para o procedimento cirúrgico pelo estímulo em alvos corticais no córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo em áreas do Sistema Nervoso Autônomo (SNA). Esta área, por meio da hiperatividade simpática do SNA proveniente da ICFEr, desencadeia, dentre outros fatores, na resposta inflamatória, contração dos vasos e remodelamento cardíaco conduzindo ao agravamento dos quadros (Liu *et al*, 2022).

Ou seja, a modulação da excitabilidade neuronal de áreas corticais pode interferir na regulação imunológica e na inflamação, alterada liberação e tempestade de citocinas, provenientes da ICFEr. Embora tenhamos disponíveis evidências recentes dos benefícios da neuroestimulação como *priming* e da suplementação nutricional, ainda existe escassez de ensaios clínicos controlados que demonstrem os efeitos das terapias de forma adjuvante no período pré-cirúrgico e pós-cirúrgico em pacientes com insuficiência cardíaca de fração de ejeção reduzida.

II.2 Hipóteses

Dessa forma, levanta-se como hipóteses para pesquisa:

- I. Procedimentos cirúrgicos cardíacos com pacientes de ICFEr levam a reações inflamatórias e com consequências clínicas (Güntürk *et al*, 2024). Necessidade de estudos que avaliam o período pericirúrgico (Karakanas *et al*, 2022). As terapias de neuromodulação vêm sendo gradualmente utilizadas para o tratamento da IC (Liu *et al*, 2022). Avaliação nutricional do pericirúrgico e a associação do risco de complicações pós-operatórias (Uribarri *et al*, 2019). A utilização de *Chlorella pyrenoidosa* como fonte de B12 e como potencial regulação da resposta inflamatória (Quiles, *et al.*, 2020; Bito *et al*, 2020). E a HD-tDCS utilizada como *priming* com efeito metaplástico (Bian *et al*, 2024).

Assim hipotetizou-se que:

- As terapias não farmacológicas, HD-tDCS e o consumo de *Chlorella pyrenoidosa*, são terapias adjuvantes que auxiliam na redução da resposta inflamatória, da injúria cardíaca e nos níveis de B12 em pacientes no período da pericirurgia.

- II. A relação cérebro-corção e a disrupção da inflamação (Waldron *et al*, 2019). Estudos adicionais para explorar os efeitos do tratamento com neuroestimulação como terapia única ou complemento de medicamentos e/ou outras terapias (Moffa *et al*, 2018).

Assim, hipotetizou-se que:

- A HD-tDCS como *priming* em pacientes com ICFEr pré-cirúrgicos traz melhora de marcadores inflamatórios e de injúria cardíaca.

- I. A relação da alteração de B12 e da homocisteína e a influência na doença cardíaca e neurodegeneração cerebral (Hernandez-Landero *et al*, 2022; Piquerau *et al*, 2022), bem como a inflamação e estresse oxidativo originado da insuficiência cardíaca (Huang *et al*, 2021) e a *Chlorella pyrenoidosa* como fonte de B12 e o seu efeito imunomodulador (Kwak *et al*, 2012) e os efeitos sobre a inflamação cerebral e neuromodulação da neuroestimulação não invasiva (Guo *et al*, 2020), esperou-se que:

- Pacientes com ICFEr pós-cirúrgicos tratados com *Chlorella pyrenoidosa* obtivessem melhora nos níveis de B12 sanguínea, do perfil inflamatório e da injúria cardíaca destes pacientes.

II.3 Objetivos

II.3.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos da HD-tDCS e do consumo de *Chlorella pyrenoidosa* sobre os níveis de B12 e a resposta inflamatória em pacientes com Insuficiência Cardíaca de Fração de Ejeção Reduzida no período pericirúrgico.

II.3.2 Objetivos específicos

- Averiguar as alterações de biomarcadores inflamatórios, cardíaco e nutricionais mediante a terapia por HD-tDCS nos pacientes arrolados no estudo como *priming* antes do procedimento cirúrgico;
- Analisar o efeito do consumo da *C. pyrenoidosa* nos níveis de B12, ácido metilmalônico e homocisteína em pacientes com ICFEr no período de trinta dias após o procedimento cirúrgico;
- Avaliar as alterações de biomarcadores inflamatórios e cardíacos mediante a terapia por consumo de *Chlorella pyrenoidosa* nos pacientes com ICFEr no período de trinta dias após o procedimento cirúrgico.

III MÉTODOS

III.1 Desenho Do Estudo

Foi desenvolvido um estudo tipo coorte prospectivo, ensaio clínico (fase II) randomizado (ECR), duplo-cego envolvendo o período pericirúrgico, mais especificamente pré-cirúrgico e pós-cirúrgico em pacientes portadores de insuficiência cardíaca com fração de ejeção reduzida (ICF_{Er}) para cirurgia de revascularização do miocárdio.

Para condução metodológica dos estudos de eficácia esta tese foi dividida em subestudos separados nomeados de: Estudo 1 ou Estudo Pré-Cirúrgico e Estudo 2 ou Estudo Pós-Cirúrgico. Os ECRs 1 e 2 fizeram parte ainda do Termo de Protocolo entre Secretaria de Estado da Saúde, Soterix CO. (Nova Iorque) e Universidade Federal da Paraíba (UFPB)/Laben, havendo a submissão e aprovação do projeto no Comitê de Ética e Pesquisa (CAAE 71646823.2.0000.5186– Anexo I). Também foi cadastrado na plataforma de ensaios clínicos - Clinical Trial – NCT0658366.

Os ECRs 1 e 2 foram conduzidos pelo período pericirúrgico, não havendo intervenção ou avaliação no período cirúrgico. Assim sendo, o período antes da cirurgia, relativo ao ECR 1 referiu-se ao uso da HD-tDCS como *priming* para cirurgia cardíaca e o período relativo ao ECR 2 foi realizado a partir da alta cirurgia até 30 dias após a cirurgia para fins de avaliação do consumo da *C. pyrenoidosa* no período após a cirurgia para análise da melhora dos níveis de B12 e assim, do quadro inflamatório e cardíaco.

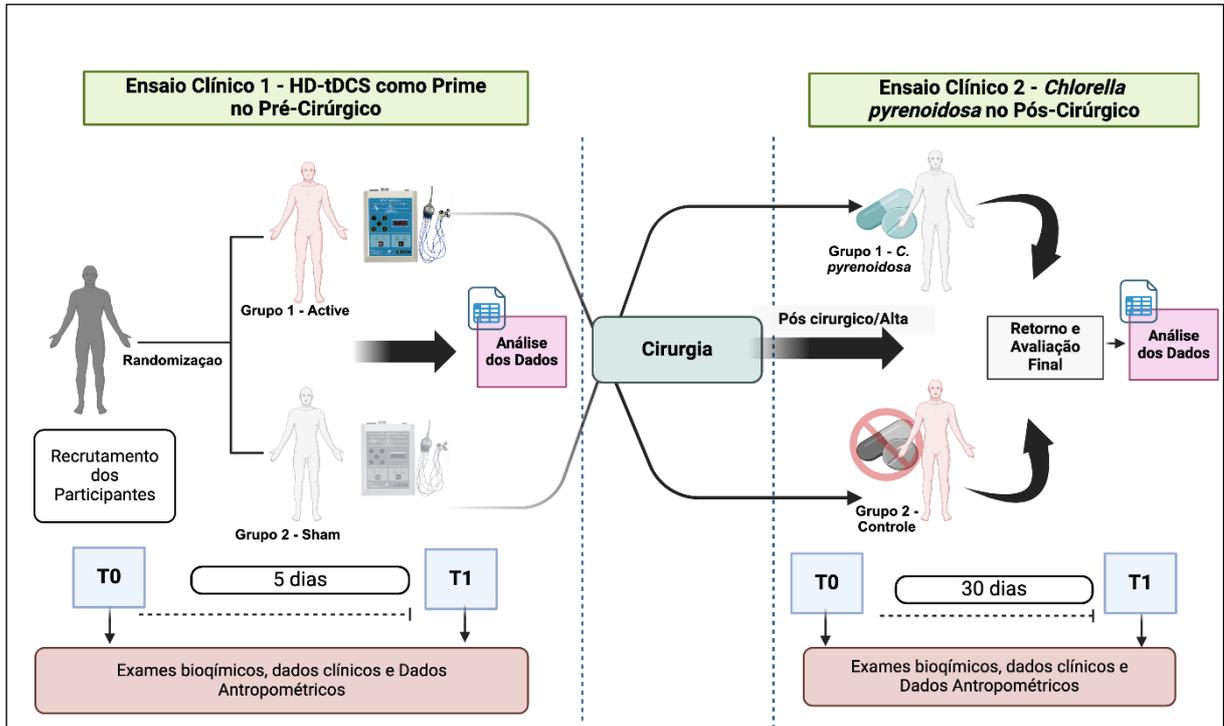
Os dois ECRs seguiram as recomendações propostas pelo protocolo para ensaio clínico serve como base para o planejamento, condução, relatório e avaliação do estudo, SPIRIT - Itens de Protocolo Padrão: Recomendações para Ensaios Intervencionistas (Chan *et al*, 2013). Sendo uma diretriz para o conteúdo mínimo de um protocolo de ensaio clínico com direcionamento por 33 itens (Anexo II).

No ECR 1, os pacientes elegíveis para pesquisa internados para procedimento cirúrgico e com ICF_{Er} estáveis foram submetidos a sessões de ETCC-HD_{4x1} durante a internação hospitalar. Com a randomização prévia, os participantes foram alocados em dois grupos de tratamento, a saber: **Grupo 1** – HD-tDCS_{4x1} Ativo e **Grupo 2** - HD-tDCS_{4x1} Placebo. Em seguida, os indivíduos receberam a neuroestimulação com aplicação durante 20 minutos por 5 dias. Os partícipes eram avaliados em dois tempos (linha de base – T0 e finalização do protocolo T1).

Após a alta os pacientes que participaram do ECR 1 e elegíveis para o ECR 2 foram invertidos entre os seus grupos, onde o **Grupo 1** - ETCC-HD_{4x1} Ativo para a ser placebo

Chlorella pyrenoidosa e **Grupo 2** - ETCC-HD_{4x1} Placebo para a ser ativo para o consumo de *Chlorella pyrenoidosa*, com vistas a evitar interferência entre os estudos. Foram realizados dois períodos de avaliação (linha de base – T0 e avaliação final – T1). Na figura 3 está apresentado o desenho da tese (ECR1 e ECR2).

Figura 3. Desenho do Estudo



Fonte: Elaboração Própria, BioRender®, 2024

Os procedimentos metodológicos em comum aos dois ECRs foram: cenário da pesquisa, participantes, recursos humanos e procedimentos das ECRs, segurança e critérios éticos, análise estatística e algumas intervenções. As especificidades metodológicas de cada ECR estão organizadas em tópicos separados.

III.2 Cenário da Pesquisa

Por tratar-se de um estudo fase II, este foi realizado no Hospital Metropolitano Dom José Maria Pires para desenvolvimento da pesquisa com pacientes de insuficiência cardíaca com fração de ejeção reduzida internados para procedimento cirúrgico e ambulatorialmente estáveis.

III.3 Participantes

III.3.1 Cálculo amostral

Considerando o ECR 1, o tamanho da amostra foi estimado baseando-se em um estudo que avaliou os efeitos da ETCC na VFC em pacientes com COVID-19 (Pinto *et al.*, 2023), sendo a modulação autonômica seu desfecho primário. Considerou-se a taxa dos parâmetros normalizados do componente de alta frequência (HF) que é amplamente utilizado como um índice de controle vagal cardíaco (Schmaußer *et al.*, 2022). Foram inseridas no cálculo as seguintes métricas: nível de significância de 5%, 80% de poder, proporção do tamanho da amostra entre grupo tratamento e controle de 1:1, diferença admitida entre os grupos de 9,4, desvio padrão (DP) de 6,6, diferença clinicamente significativa de 1,6 e uma taxa de abandono de 10%. O cálculo foi realizado por meio da calculadora online disponível em <http://riskcalc.org:3838/samplesize/>.

Desta forma, o cálculo propôs uma amostra mínima de 28 pacientes (14 por grupo). Considerando os múltiplos desfechos e a possibilidade de perda amostral de 20% (desistência, impossibilidade de continuar o tratamento e mortalidade). O ECR 2 configura-se como um estudo piloto. Dessa forma, a amostra foi composta pelos pacientes do do ECR1 deste que atendidos os critérios de inclusão no ECR 2.

III.3.2 Recrutamento e critérios de elegibilidade

Os participantes foram recrutados nas enfermarias cardíacas do Hospital Metropolitano Dom José Maria Pires com diagnóstico de ICFEr. A duração total planejada para o estudo foi de 12 meses. A duração total da participação de cada paciente foi em média 5 dias na Unidade de Terapia Intensiva, de 10 dias na Enfermaria e 30 dias em ambulatório; pois cada paciente foi acompanhado por igual período de dias após a inclusão para coleta dos dados de evolução, respectivamente. Assim, considerou-se para o ECR 1:

- a) Critérios de Inclusão: pacientes com diagnóstico ICFEr estáveis com indicação cirúrgica; que fossem adultos e idosos (18 a 80 anos); que fossem capazes de responder os comandos e conferir anuência a participar da pesquisa por meio do TCLE.
- b) Critérios de exclusão: pacientes com história clínica de instabilidade neuromuscular ou cognitiva e contraindicações para recebimento da neuroestimulação (tais como marca-passo cardíaco e implantes metálicos cerebrais).

Para o ECR 2, considerou-se os seguintes critérios de inclusão e exclusão:

- a) Critérios de Inclusão: pacientes de pós-operatório da ICFEr e que tenha feito parte do ECR 1; que fossem adultos e idosos (18 a 80 anos); que fossem capazes de responder os comandos e conferir anuência a participar da pesquisa por meio do TCLE.
- b) Critérios de exclusão: Paciente com histórico de gastrite, refluxo gastroesifagiano ou condição clínica que impedisse o consumo da *Chlorella pyrenoidosa*.

III.3.3 Randomização e blindagem

Os participantes foram divididos em grupos de 19 em cada no ECR 1, sendo um grupo ativo o que recebeu a HD-tDCS e um grupo simulado ou *sham*, os quais foram invertidos no ECR 2. Cada participante elegível foi então atribuído aleatoriamente ao seu grupo específico de acordo com a regra de proporção igual de 1:1. Sendo utilizado um gerador de números aleatórios através de um programa de randomização online (www.random.org).

O pesquisador que gerou a sequência e alocação foi diferente do pesquisador que trabalhou a intervenção. Assim, tanto os pesquisadores avaliadores quanto os praticantes foram cegos quanto ao tipo de tratamento que o paciente recebeu. Dessa forma, foi considerada uma sequência aleatória, ocultação de alocação, cegamento dos participantes e pesquisadores avaliadores (tanto para desfecho como para viés de atrito) (Cham *et al*, 2013).

III.3.4 Atrito e aderência

No ECR 1 foram consideradas as seguintes circunstâncias configurando como atrito: a) duas faltas consecutivas ou alternadas durante as sessões ao longo dos cinco dias devido ao desenvolvimento de alguma condição incapacitante para participação no estudo ou que levasse às faltas (como exames externos); b) ausência de coleta dos exames de controle da pesquisa.

Nesse sentido para maior aderência, os pesquisadores adaptavam os horários de neuroestimulação à dinâmica do paciente/hospital. Em relação aos exames de controle da pesquisa, estes poderiam ser realizados com até 24 horas após a intervenção por HD-tDCS para adaptação ao fluxo do hospital/paciente.

No ECR 2 foram consideradas como condições de atrito: a) o consumo inadequado da *Chlorella pyrenoidosa* e/ou desistência ao tratamento; b) perda da data do retorno da avaliação pós-cirúrgica.

Assim, para fins de garantia de maior aderência, realizou-se o acompanhamento pelo telefone aos partícipes da pesquisa. Configurando ainda como uma forma de acompanhamento

clínico para possíveis sinais e sintomas, bem como dúvidas. O acompanhamento era realizado por um nutricionista experiente, servidor do estado da Paraíba e colaborador da pesquisa. Ademais, para maior aderência à pesquisa e por questões éticas, todos os exames realizados pelo protocolo da pesquisa foram entregues aos pacientes e disponibilizados ao prontuário do hospital, também foi designado um dia para um ambulatório caso o paciente em alta necessitasse de orientação nutricional após o internamento.

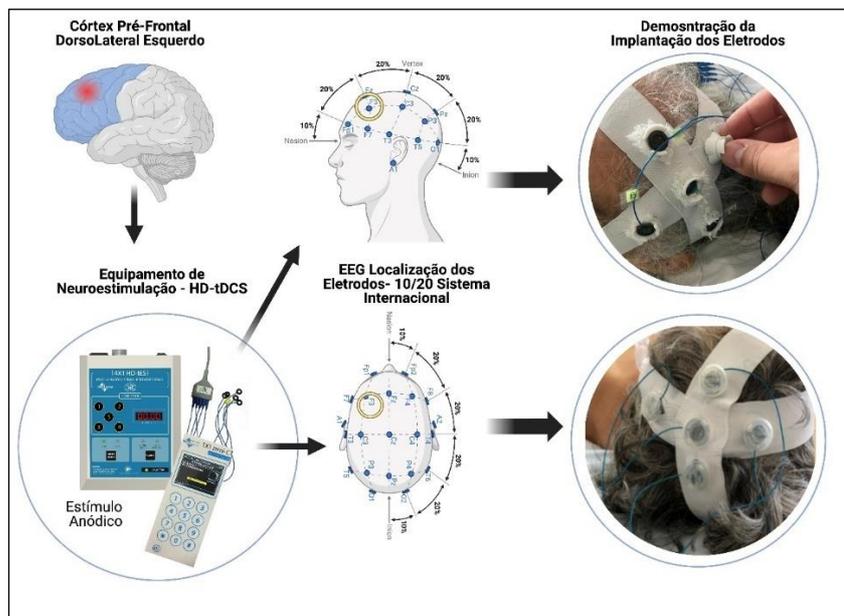
III.4 Intervenções Clínicas

As intervenções clínicas foram organizadas de acordo com os ECRs e havendo um tópico específico das intervenções realizadas nos dois grupos, sendo estas: exames laboratoriais e antropometria.

III.4.1 Ensaio Clínico 1 - HD-tDCS

Simultaneamente à aplicação do tratamento protocolar do hospital, foram conduzidas sessões não-consecutivas, uma vez por dia, com duração de 20 minutos da HD-tDCS 4x1 (desenvolvido pela Soterix Medical Inc.) por 5 dias no período pré-cirúrgico. O posicionamento dos eletrodos está apresentado na figura 4.

Figura 4. Posicionamento do Eletrodos para Estímulo por HD-tDCS segundo Sistema Internacional 10/20



Fonte: Elaboração Própria, BioRender®, 2024

Foram fornecidos uma corrente de 3mA ou simulada, de acordo com o grupo de tratamento respectivo, posicionando-se um eletrodo central (ânodo) sobre córtex pré-frontal

dorsolateral (CPFDLe) esquerdo e os quatro eletrodos de retorno em um raio de 7,5 cm ao redor, segundo Sistema Internacional 10/20, sendo o ponto F3 (figura 4). (Makovac, Thayer & Ottaviani, 2017; Guo *et al.*, 2022; Johnson *et al.*, 2013).

A corrente foi aplicada sob protocolo de 3mA (Reckow *et al.*, 2018) durante 20 minutos, com rampa de subida de 30 segundos no início e rampa de descida de 30 segundos ao final da estimulação no grupo ativo (Grupo 1). Para o grupo placebo (Grupo 2), a montagem foi a mesma, porém, em relação ao protocolo, o aparelho atinge a corrente de 3 mA e desce nos 30 segundos iniciais, manteve-se com corrente de 0.1 mA por 20 minutos, e a corrente de 3 mA retorna apenas nos 30 segundos finais, novamente com rampa de subida e descida.

Para as sessões de HD-tDCS_{4x1}, foi utilizado o neuroestimulador 1x1 *mini-CT Stimulator Model 1601* acoplado ao adaptador 4x1-C3A *HD-tDCS Multi-Channel*, desenvolvido pela *Soterix Medical Inc.*, contendo kit com eletrodos, invólucros de plástico, gel condutor, touca de elástico e cabos conectores. Para evitar que os eletrodos oxidassem foi realizada a rotação dos eletrodos, como também a limpeza e inspeção adequada, aplicação de quantidade consistente de gel condutor e monitoramento de impedância durante as sessões.

III.4.2 Ensaio Clínico 2 – *Chlorella pyrenoidosa*

Para a análise pela perspectiva nutricional o paciente foi ser avaliado em dois períodos (na alta cirúrgica e no retorno ambulatorial após 30 dias), para os seguintes aspectos: antropometria, análise do consumo alimentar, avaliação bioquímica e alimentação funcional.

A alimentação funcional foi direcionada por meio da indicação de consumo de *Chlorella pyrenoidosa* para Grupo 1 Ativo do ECR 2 da pesquisa. Ademais, a foi analisada laboratorialmente para determinação da composição físico-química, do perfil de açúcares, ácidos orgânicos e compostos fenólicos, com vistas a observar seu potencial funcional e qualidade para a pesquisa.

III. 4.2.1 Alimentação Funcional

A pesquisa utilizou a intervenção nutricional a *Chlorella p.* como alimento funcional (Espen, 2017) e para o **Grupo 1** foram fornecidos de 10 tabletes por dia de *Chlorella pyrenoidosa* (5g/dia) contendo 4mcg de B12, de acordo com o intervalo de recomendação de ingestão diária ideal - 3 a 5 µg/dia (Padovanni; Amaya-Farfán; Colugnati; Domene, 2006), por 30 dias consecutivos após a alta hospitalar. O **Grupo 2** (controle) não sofreu interferência, recebeu as instruções-padrão para o retorno pós-cirúrgico.

Os pacientes recebiam telemonitoramento para consumo adequado da *Chlorella p.* uma vez por semana, bem como para relatar possíveis sinais e sintomas relativos ao consumo e assim serem orientados. No retorno ambulatorial, também eram orientados a devolver as cápsulas que pudessem não ter consumido, para fins de controle do consumo do alimento funcional pelos pesquisadores.

Foi ofertada a *Chlorella pyrenoidosa* orgânica prensada em tabletes (Registro na ANVISA/MS: 6.7273.000 - Broken Cell® - marca Puravida), que teve sua qualidade nutricional atestada pela empresa produtora Tradal Brasil, e foi caracterizada nutricionalmente em testada sua qualidade em laboratórios da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

a) Caracterização Físico-Química e Determinação do Perfil de Açúcares, Ácidos Orgânicos e Compostos Fenólicos da *Chlorella pyrenoidosa*

- Caracterização físico-química: a caracterização físico-química foi realizada analisando teor de umidade, cinzas, proteínas, carboidratos e lipídios (g/100 g) seguindo procedimentos da *Association of Official Analytical Collaboration* (AOAC, 2019). As determinações foram realizadas em triplicata.
- Determinação do perfil de açúcares e ácidos orgânicos: conteúdo de açúcares e ácidos orgânicos na *C. pyrenoidosa* foi analisado por um sistema de cromatografia líquida *Agilent 1260 Infinity LC* (*Agilent Technologies*, Santa Clara, EUA). Os dados foram processados utilizando o *software OpenLAB CDS ChemStation Edition™* (*Agilent Technologies*, Santa Clara, EUA) (coelho *et al.*, 2018).
- Determinação do perfil de compostos fenólicos: os compostos fenólicos foram determinados seguindo metodologia validada por Padilha e colaboradores (2017). As análises cromatográficas foram realizadas utilizando um sistema LC *Agilent 1260 Infinity* (*Agilent Technologies*, Santa Clara, EUA) de cromatografia líquida acoplada ao detector de arranjo de diodos (DAD) (modelo G1315D).

b) Composição Proximal e Concentração de Ácidos Orgânicos e Compostos Fenólicos da *Chlorella pyrenoidosa*

Considera-se a partir da análise físico-química realizada pela pesquisa para controle de qualidade da *Chlorella pyrenoidosa* orgânica, que esta é um alimento fonte de proteína, com baixo teor de açúcares, contendo ainda em sua composição compostos bioativos (compostos fenólicos), além da B12 especificada no rótulo do alimento. Na tabela 1 estão apresentados os resultados da análise do alimento funcional.

Tabela 1. Composição Proximal e Concentração de Ácidos Orgânicos e de Compostos Fenólicos da *Chlorella pyrenoidosa*

Parâmetros Físico-químicos	(g/100 g; DP)
Proteína	60.00±0.31
Lipídeos	11.17±0.07
Carboidratos	14.06±0.01
Umidade	7.42±0.62
Cinzas	7.38±0.18
Ácidos orgânicos	(mg/100 g)
Ácido Cítrico	37.18 ± 3.82
Ácido Tártarico	11.63 ± 2.92
Ácido Málico	21.76 ± 0.66
Ácido Succínico	174.92 ± 31.19
Ácido Lático	91.76 ± 19.27
Ácido Fórmico	388.73 ± 17.35
Ácido Acético	375.93 ± 20.15
Ácido propiônico	1716.52 ± 149.26
Compostos Fenólicos	(mg/100 g)
Flavonóides	
Catequina	3.5 ± 0.06
Galato de epicatequina	9.39 ± 0.13
Procianidina B2	1.3 ± 0.02
Estilbeno	
Cis-resveratrol	3.15 ± 0.06
Total de Compostos Fenólicos	17.34 ± 0.26

Fonte: Elaboração Própria, 2024

Observou-se ainda a presença de ácidos orgânicos que conferem de forma natural tempo de prateleira ao produto, referenciado a sua baixa toxicidade e segurança de consumo durabilidade (Sousa *et al*, 2003; Novais *et al*, 2022). Já os açúcares presentes tiveram uma

proporção menor de 0,01g para cada 5 gramas do alimento consumido, sendo estes glicose, frutose e maltose, reforçando a segurança para o consumo inclusive de pacientes diabéticos.

Contém contém catequina, epigalato de catequina, procianidina B2 e cis-resveratrol como compostos fenólicos majoritários em sua composição fitoquímica. Esses compostos fenólicos estão associados a diversas atividades biológicas, incluindo atividades antiplaquetárias, hipolipemiantes, antiinflamatórias e antioxidantes que promovem benefícios à saúde do sistema cardiovascular, inclusive por lesões endoteliais induzidas por Hcy (Jiang *et al*, 2023). Tais compostos além da B12 e da proteína presentes apontem para a condição de alimento funcional da *C. pyrenoidosa*.

III. 4.2.2 Avaliação do Consumo

A avaliação do consumo adotada na pesquisa foi de caráter qualitativo, mediante as informações coletadas na unidade hospitalar. Desta feita, observou-se: uso de dieta enteral, oral ou mista (suplemento nutricional e dieta oral) nos momentos na linha de base, após protocolo de HD-tDCS, na alta e no ambulatório.

III.4.3 Intervenções Clínicas em Comum nos dois Estudos

III.4.3.1 Antropometria

A avaliação antropométrica é um método para averiguação das medidas e proporções do corpo humano. Foi utilizada como método desta pesquisa como forma de avaliação do estado nutricional dos participantes. Nesse sentido, utilizou-se: altura do joelho (na impossibilidade de aferição da altura), altura, peso, medida do músculo adutor, circunferência da panturrilha, circunferência do braço, prega cutânea tricipital e subescapular (Souza; Ferreira; Segadilha, 2019).

Todas as medidas foram realizadas de acordo com a possibilidade clínica do paciente e fluxo operacional do hospital. No quadro 2 estão descritas as medidas, bem como a avaliação do estado nutricional adotado na pesquisa e seus pontos de corte aplicados.

Quadro 2: Métodos Antropométricos e de Avaliação Nutricional Adotados para a Pesquisa

Medida / Método	Método	Observações	Pontos de Corte/ Estado Nutricional
Peso	Foi aferido por meio de uma balança digital, onde o participante foi posicionado centro da base da balança descalços e roupas leves, sem adornos; com os pés levemente afastados no intuito de distribuir o peso, corpo ereto, braços estendidos ao longo do corpo e com o olhar no Plano Horizontal de Frankfurt (arco orbital inferior alinhado em um plano horizontal com o pavilhão auricular).	Utilizada a medida em quilogramas (Kg)	Não aplicável
Altura	A estatura foi aferida por meio de estadiômetro portátil, onde o participante foi posicionado com os braços estendidos ao longo do corpo; cabeça ereta, com olhos fixos à frente, no Plano Horizontal de Frankfurt (arco orbital inferior alinhado em um plano horizontal com o pavilhão auricular);	Utilizada a medida em metro e duas casas decimais (m)	Não aplicável
Altura do Joelho	Paciente em decúbito dorsal, com o tornozelo e o joelho flexionados a um ângulo de 90 graus, utilizando uma fita métrica inelástica, cuja extremidade foi colocada na borda superior da patela, estendendo-se paralelamente à tíbia até o calcanhar.	Fórmula para estimativa de Altura: Homens = [64,19 - (0,04 x idade) + (2,02 x altura do joelho em cm)] Mulheres = [84,88 - (0,24 x idade) + (1,83 x altura do joelho em cm)]	Não aplicável
Índice de Massa Corporal (IMC)	Índice de Massa Corporal (IMC) avalia a massa corporal, é uma fórmula matemática que usa o peso e altura do paciente.	$IMC (kg/m^2) = \frac{Peso (kg)}{Altura^2 (metros)}$	Classificação: Idosos: > 27,0 = obesidade 22,0 -27,0 = adequado < 22,0 = baixo peso Adultos ≥ 25,0 = sobrepeso/obesidade 18,5 -24,9 = adequado < 18,5 = desnutrição
Medida do Músculo Adutor	o braço flexionado a aproximadamente 90° com o antebraço e a mão apoiada sobre o joelho; pinçar o músculo adutor no vértice de um triângulo imaginário formado pela extensão do polegar e indicador com o adipômetro.	Será utilizada em associação com a NRS-2002 e MNA	Classificação: >13,1 = eutrofia ≤13,1 = sarcopenia
Circunferência da Cintura (CC)	Aferida por meio de uma fita inelástica no ponto médio entre a crista ilíaca e a última costela. Durante a leitura a fita permaneceu reta e paralela ao chão, sem compressão ou folga, no momento da expiração. Foi utilizada média dos valores das duas aferições efetuadas.	Utilizada a medida em centímetros (cm)	Masculino: Risco elevado = ≥ 94 cm; risco muito elevado= ≥ 102 cm Feminino: Risco elevado = ≥ 80 cm; risco muito elevado= ≥ 88 cm

(Continua)

(Continuação)

Circunferência do Braço (CB)	Foi seguido o protocolo de Frisancho (1990), aferida com auxílio de fita inelástica após a localização do ponto médio com o braço relaxado, o avaliador contornou o braço com a fita métrica inextensível, no ponto marcado, de forma ajustada, sem compressão ou folga do braço; efetuou-se a leitura no milímetro mais próximo em cerca de 2 a 3 segundos. Foi utilizada média dos valores das três aferições efetuadas.	É usada a fórmula de adequação (regra de três) da CB onde compara o valor encontrado aos valores padrão (percentil 50) de Frisancho (1981) para adultos e Kuczmarski <i>et al.</i> (2000) para idosos: CB padrão ----- 100% CB aferida ----- X	O percentual obtido da adequação, foi utilizado para a classificação do estado nutricional: ≥120,0% = sobrepeso/obesidade 90,1-110%= adequado ≤80,1 – desnutrição
Circunferência da Panturrilha	A medida deverá ser realizada na perna esquerda, com uma fita métrica inelástica, na sua parte mais protuberante.	Utilizada a medida em centímetros (cm)	Ponto de corte para risco nutricional: < 31cm.
Prega Cutânea Subescapular	Foi seguido o protocolo de Frisancho (1990), aferida com auxílio de adipômetro. O avaliador localizou o ângulo inferior da omoplata, que é ponto mais protuberante; em seguida o participante foi orientado a relaxar os braços e mantê-los estendidos ao longo do corpo com a palma da mão voltada para a coxa; , o avaliador pinçou a pele com o dedo polegar e indicador a 1 cm do ponto marcado, formando um ângulo de 45° com a coluna vertebral, mantendo a dobra entre os dedos até o final da aferição; após a primeira aferição foi mantida a dobra entre os dedos para dar continuidade às próximas duas aferições; Efetuou-se a leitura no milímetro mais próximo em cerca de 2 a 3 segundos. Foi utilizada média dos valores das três aferições efetuadas.	Utilizada a medida em milímetros (mm). Foi utilizada para cálculo da Circunferência Muscular do Braço (CMB): $CMB = CB (cm) - \pi X [PCT (mm) /10]$	O percentual obtido da adequação, foi utilizado para a classificação do estado nutricional: >90 = eutrofia 80-90= desnutrição leve <80 – desnutrição moderada/grave
Prega Cutânea Tricipital (PCT)	Foi seguido o protocolo de Frisancho (1990), aferida com auxílio de adipômetro após a da localização do ponto médio com o braço relaxado, o avaliador pinçou a pele com o dedo polegar e indicador a 1 cm do ponto marcado, formando um ângulo de 45° com a coluna vertebral, mantendo a dobra entre os dedos até o final da aferição; após a primeira aferição foi mantida a dobra entre os dedos para dar continuidade às próximas duas aferições; Efetuou-se a leitura no milímetro mais próximo em cerca de 2 a 3 segundos. Foi utilizada média dos valores das três aferições efetuadas.	É usada a fórmula de adequação (regra de três) da PCT onde compara o valor encontrado aos valores padrão (percentil 50) de Frisancho (19) para adultos e Kuczmarski <i>et al.</i> (2000) para idosos: PCT padrão ----- 100% PCT aferida ----- X	O percentual obtido da adequação, foi utilizado para a classificação do estado nutricional: >90 = eutrofia 80-90= desnutrição leve <80 – desnutrição moderada/grave
Circunferência Muscular do Braço (CMB)	A Circunferência Muscular do Braço (CMB) é um indicador que avalia reserva muscular do indivíduo a partir das medidas de CB e PCT, sem correção óssea.	É obtida através da fórmula matemática: $CMB (cm) = CB (cm) - (PCTmm \times 0,314)$ Em seguida aplica-se a fórmula de adequação (regra de três) da CMB. onde compara o valor encontrado aos valores padrão (percentil 50) de Frisancho (19) para adultos e Kuczmarski <i>et al.</i> (2000) para idosos: CMB padrão ----- 100% CMBaferida ----- X	O percentual obtido da adequação, foi utilizado para a classificação do estado nutricional: >90 = eutrofia 80-90= desnutrição leve <80 – desnutrição moderada/grave

Fonte: Rubstein *et al.*, 2001; Souza, Ferreira, Segadilha, 2019; Kiki *et al.*,2018; Brangagnolo *et al.*, 2009; Barbosa, Vicentini, Lango, 2019; Silva, Marucci, Roedger, 2014; Chumlea *et al.*, 1985; Kaegi-Braun *et al.*, 2021; Frisancho, 1981; Frisancho, 1990; Blackburn & Thornton, 1979; OMS, 1995; OMS, 1998, Lipchitz, 1994; NCEP, 2001.

III.4.3.2 Parâmetros Bioquímicos

Os parâmetros bioquímicos foram utilizados como referência para análise nutricional, para fins de definição do diagnóstico nutricional e avaliação das intervenções dos dois ECRs. Os exames foram coletados e analisados pelo laboratório do Hospital, por questões de segurança ao usuário e precaução ao risco de infecção hospitalar por aumento do fluxo de pessoas externas no hospital, sendo este o Laboratório Diagfarma Comércio de Serviço de Produtos Hospitalares e Laboratoriais.

O laboratório disponibilizou um técnico de referência que ficava responsável pelo fluxo da pesquisa no laboratório e organização dos resultados. Assim, a requisição dos exames e os resultados destes já ficavam alocados nos prontuários (nível hospitalar e nível ambulatorial) dos pacientes e eram encaminhados pelo técnico de referência do laboratório para o pesquisador auxiliar.

Nesse interim, os participantes realizaram os exames no T0 (linha de base) e no T1 em cada ECR. Cujos exames em questão foram: Hemograma completo, desidrogenase láctica (DHL), NT-pró-BNP, PCR, B12 sérica, magnésio, selênio, ácido metilmalônico, homocisteína, Interleucina-6 (IL-6) e TNF- α (Mccadden; Regland, 2021; Paniz *et al*, 2005; Zaric *et al*, 2019; Shimada *et al*, 2021; Barbagallo *et al*, 2021; Sproston; Ashworth, 2018).

No dia anterior a coleta, mediante elegibilidade à pesquisa e randomização, a equipe clínica do hospital era comunicada e o pesquisador médico colaborador realizava a prescrição dos exames no prontuário do paciente. O pesquisador auxiliar também apresentava uma lista semanal para acompanhamento dos resultados ao técnico de referência do laboratório.

No dia da coleta do exame eram coletados 25 ml de sangue periférico dos pacientes pelo técnico em análises clínicas do laboratório no hospital, conforme orientação da pesquisa e médica. O sangue era coletado em tubos de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), para realização do exame de hemograma, e tubos sem anticoagulante, para obtenção de soro. O volume dos tubos de EDTA utilizados era de 4,0 mL; já o volume dos tubos de soro utilizados variava de 3,5 a 5,0 mL, sendo este último utilizado para realização do exame selênio.

Para o exame hemograma completo, utilizou-se tubo com anticoagulante EDTA; para o selênio, foi utilizado soro coletado em tubo trace (sem presença de metais em sua composição) sem adição de anticoagulante ou qualquer aditivo. Para os demais exames, foi utilizado material soro, coletado em tubo com gel separador. Todas as coletas foram realizadas utilizando sistema à vácuo, garantindo mais segurança a paciente e coletador e minimizando o risco de contaminação do material.

Quadro 3: Métodos de Análise dos Exames Bioquímicos da Pesquisa e os Pontos de Corte

Exame	Método	Pontos de Corte	Referência Adotada
Hemograma	Todas as amostras de EDTA utilizadas para realização do exame hemograma completo foram analisadas em analisador automático com contagem diferencial em 5 partes. Os valores liberados pelo equipamento foram conferidos em lâmina pelo biomédico responsável pelo plantão. A metodologia analítica utilizada pelo equipamento consiste em bioimpedância para determinação de leucócitos totais, hemácias e plaquetas; colorimétrico para dosagem de hemoglobina; e citometria de fluxo para determinação da contagem diferencial da série branca.	Hemácias Homens > 4,7 milhões/ μ L Mulheres > 4,2 milhões/ μ L Hemoglobina Homens > 13 g/L Mulheres > 12 g/L Hematócrito Homens > 39% Mulheres > 36%	Referência indicada pelo laboratório. OMS, 2021
Leucograma	No material enviado pelo laboratório, Leucograma entra como parte do hemograma completo	Razão Neutrófilo/Linfócito – 5.0 (acima deste valor aumenta o risco de internamento e óbito na IC)	Cho <i>et al</i> , 2020
DHL	As amostras de soro, coletadas em tubo com gel separador, foram utilizadas para determinação desse analito. As amostras foram processadas em equipamento automatizado turbidimétrico.	< 328 U/L (valores acima tem um risco maior de mortalidade intra-hospitalar e piora do prognóstico na IC)	Zeng <i>et al</i> , 2022
TNF-α	O material utilizado para a realização desse exame foi soro coletado em tubos com gel separador. A determinação foi realizada em equipamento automatizado, utilizando a método de quimioluminescência.	< 2,8pg/mL < 4,3 pg/mL (acima deste valor há associação com eventos adversos e dispneia)	Referência indicada pelo laboratório. Jodan <i>et al</i> , 2003
IL-6	O material utilizado para a realização desse exame foi soro coletado em tubos com gel separador. A determinação foi determinada através de eletroquimioluminescência.	<3,4pg/mL < 5 pg/mL (acima deste valor há associação com eventos adversos e mortalidade nas doenças cardíacas)	Referência indicada pelo laboratório. Mossmann <i>et al</i> , 2022; Lindmark <i>et al</i> , 2001.
PCR	A amostras de soro, coletadas em tubo com gel separador, foram utilizadas para determinação desse analito. As amostras foram processadas em equipamento automatizado turbidimétrico.	PCR alterada > 6 mg/L < 10mg/L (acima desse valor há associação com riscos adversos e mortalidade na IC)	Referência indicada pelo laboratório. Al Aseri, Habib &Marzouk (2019)

(Continua)

(Continuação)

Magnésio	As amostras de soro, coletadas em tubo com gel separador, foram utilizadas para determinação desse analito. As amostras foram processadas em equipamento automatizado turbidimétrico.	1,9 – 2,5mg/dL	Referência indicada pelo laboratório.
Selênio	O material utilizado para a realização desse exame foi soro coletado em tubo trace sem adição de qualquer aditivo. A determinação foi realizada utilizando espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado.	46 - 143 µg/L	Referência indicada pelo laboratório.
NT-Pró-BNP	O material utilizado para a realização desse exame foi soro coletado em tubos com gel separador. A determinação foi realizada em equipamento automatizado, utilizando a método de quimioluminescência.	Ponto de Corte < 125pg/ml < 300pg/ml (acima deste valor associa-se ao avanço da IC com efeitos adversos) Para IC graves e aumento da probabilidade de óbito >1078pg/mL	Ozturk <i>et al</i> , 2011 Gaggin & Januzzi, 2023
B12	O material utilizado para a realização desse exame foi soro coletado em tubos com gel separador. A determinação foi realizada em equipamento automatizado, utilizando a método de quimioluminescência.	> 148pmol/L (abaixo desse valor é considerada deficiência) Deficiência subclínica 148 a 221pmol/L	Green <i>et al</i> , 2017
Homocisteína	O material utilizado para a realização desse exame foi soro coletado em tubos com gel separador, A determinação foi realizada em equipamento automatizado, utilizando a método de quimioluminescência;	Homens: 5,46 – 16,20 µmol/L Mulheres: 4,44 – 13,56 µmol/L Ponto de corte de 12 µmol/L/L (acima de associação com a DCV)	Referência indicada pelo laboratório Debreceni & Debreceni, 2014
Ácido Metilmalônico	O material utilizado para a realização desse exame foi soro coletado em tubos com gel separador. A determinação foi feita em cromatografia líquida/espectrometria de massas em tandem.	< 0,27 µmol/L (acima desse valor considera-se com a B12 a deficiência)	Green <i>et al</i> , 2017

Fonte: Elaboração da pesquisa, vários autores (dispostos na parte interna do quadro), 2024

III.5 Desfechos Clínicos

Para ambos ECRs foram colhidos os dados demográficos (idade e sexo), de estilo de vida (tabagismo, uso de álcool, prática de atividade física), histórico médico, gravidade da doença, medicações em uso. Bem como foram aplicadas as ferramentas para fins de observância dos desfechos. Foram observados ainda em prontuário os exames bioquímicos do protocolo adotado pelo hospital de referência para o estudo, Hospital Metropolitano Dom José Maria

Pires. Além destes, serão observados os exames: B12, NT-Pró-BNP, desidrogenase lática (DHL), Ácido Metilmalônico (MMA), homocisteína, Interleucina-6 (IL-6) e Fator de Necrose Tumoral (TNF- α) (Langan *et al*, 2017; Paniz *et al*, 2005; GUO *et al*, 2020). Também foram levantados os dados referentes à nutrição no ambiente hospitalar (uso de dieta enteral, suplemento, via oral ou mista).

III.5.1 Desfechos Clínicos do Ensaio Clínico 1

Foram considerados os seguintes desfechos:

- **Desfecho Primário**

Redução do marcador inflamatórios Interleucina-6 (IL-6) (Guo *et al*, 2020).

- **Desfechos Secundários**

- a) Melhora nos parâmetros cardíacos e nutricionais (apresentar aumento da B12 e redução do ácido metilmalônico e da homocisteína) e melhora dos marcadores inflamatórios (PCR, TNF- α), melhora do marcador de injúria de órgãos (DHL) e melhora do marcador de injúria cardíaca (NT-Pró-BNP) (Langan *et al*, 2017; Paniz *et al*, 2005, Guo *et al*, 2020).
- b) Avaliação do impacto da tDCS no T0 e T1 (após 5 dias):
 - Óbito;
 - Tempo de internação (número de dias) no hospital e na UTI
- c) Melhora de disfunções orgânicas e qualidade de vida relacionadas a IC:
 - Monitorização dos Sinais Vitais: Frequência Cardíaca (FC) (*European Heart Journal*, 1996), Frequência Respiratória (FR) e saturação arterial de oxi-hemoglobina (SpO₂) e temperatura (°C) antes e após a aplicação dos protocolos de tratamento.

III.5.2 Desfechos Clínicos do Ensaio Clínico 2

Foram considerados os seguintes desfechos:

- **Desfecho Primário**

Aumento da B12 sanguínea (Langan *et al*, 2017).

- **Desfechos Secundários**

- a) Melhora nos parâmetros cardíacos e nutricionais (redução do ácido metilmalônico e da homocisteína) e melhora dos marcadores inflamatórios (IL-6, PCR, TNF- α), melhora do marcador de injúria de órgãos (DHL) e melhora do marcador de injúria cardíaca (NT-Pró-BNP) (Langan *et al*, 2017; Paniz *et al*, 2005, Guo *et al*, 2020).

- b) Avaliação do impacto do consumo da *Chlorella pyrenoidosa* no T0 e T1 (após 30 dias): na antropometria

III.6 Recursos Humanos e Procedimentos da Pesquisa

A pesquisa contou com uma etapa de recrutamento de profissionais (enfermeiros, nutricionistas, terapeutas ocupacionais e fisioterapeutas) do hospital e pesquisadores colaboradores que foram treinados em setembro de 2023 para aplicar a técnica de HD-tDCS e realizar o levantamento dos dados clínicos da pesquisa, com vistas a garantir a correta execução das técnicas e a segurança dos participantes. A pesquisa ofertou ainda treinamento para outros centros partícipes do estudo multicêntrico (UEPA e UFRN).

Quadro 4. Execução das Atividades e Atribuições dos Pesquisadores de Acordo com o Desenho da Pesquisa

Atividade	Screening /Pré-ensaio clínico / Baseline (T0)	Intervenção (T0 e T1)	Período T2 e T3 (End Point)	Pós-Alocação
Procedimentos iniciais				
Critérios de elegibilidade	X			
Consentimento informado	X			
Alocação e Randomização	X			
Avaliações				
Triagem Nutricional	X		X	
Antropometria	X		X	
Exames Bioquímicos	X		X	
Escalas de Uso Hospitalar	X		X	
Escala da Qualidade de Vida	X		X	
Intervenções				
HD-tDCS		X		
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>			X	
Segurança				
Avaliação de relatos de efeitos adversos		X	X	

Nota: T0 = linha de base. T0-T1 = período de intervenção hospitalar. Te e T3 = período de intervenção ambulatorial / Finalização do ensaio clínico

Fonte: Elaboração Própria, 2024

As avaliações antropométricas foram realizadas apenas por nutricionistas treinados e a coleta de sangue para bioquímica e a análise contou-se com o apoio para realização dos exames do laboratorial do Hospital – Diagfarma para os exames fora da rotina do hospital.

A rotina de atendimentos foi organizada com agendamento prévio conforme rotina do hospital, de forma que o paciente realizou as avaliações funcionais em um mesmo turno e em apenas um dia, diminuindo a quantidade de deslocamentos ao laboratório e inibindo possíveis perdas de seguimento. No quadro 4 encontra-se a organização das atividades da pesquisa.

Para o procedimento da pesquisa definiu-se 3 tipos de pesquisador: pesquisador responsável, pesquisador colaborador (examinador) e pesquisador auxiliar. As especificações de cada um foram seguidas conforme no quadro 5.

Quadro 5. Atribuições dos Pesquisadores para a Aplicação da HD-tDCS e Ferramentas da Pesquisa

Tipo de Pesquisador	Atribuição
Pesquisador Responsável	Acompanhar antes e ao término a HD-tDCS nos pacientes. Estar cego para quem receberá estimulação verdadeira ou simulada Treinar todos os pesquisadores examinadores Coordenar o andamento das etapas da pesquisa
Pesquisador Auxiliar	Responsável pela randomização e disponibilização aos pesquisadores colaboradores (examinadores) Treinar todos os pesquisadores examinadores Acompanhar resultados dos exames e ser referência para o laboratório e equipe clínica do hospital Auxiliar na organização do banco de dados da pesquisa
Pesquisador Colaborador (examinador)	Ser o aplicador da técnica no paciente, sabendo quem será estímulo verdadeiro ou placebo Aplicar as ferramentas da pesquisa e preencher os formulários Alertar o pesquisador principal frente a sinais e sintomas nos pacientes decorrentes de efeitos adversos.

Fonte: Elaboração Própria, 2024

III.7 Segurança e Critérios Éticos

Por tratar-se de pesquisa com intervenção, prevê-se riscos, mais especificamente no que se refere aos efeitos adversos, o paciente será questionado se experimentou efeitos como “formigamento”, “queimação”, “dor de cabeça”, “sonolência” e outros, sendo em seguida questionada qual a intensidade desta sensação (1- nenhum, 2- leve, 3- moderada, 4- forte), e se este efeito estaria relacionado com a estimulação, em uma escala *Likert* de 1 (nenhuma relação) a 5 (fortemente relacionado) (Brunoni, 2012).

Já a intervenção nutricional por tratar-se de alimento (prensada e em tablete para via de auxiliar na condução da pesquisa) não se espera nenhum tipo de adversidade atípica, a não ser as previstas para alimentos como um processo alérgico, o qual foi observado pela equipe multidisciplinar e avaliado na anamnese com antecedência como critério de exclusão.

E, caso acontecesse, todos os eventos adversos e mortes relatados seriam analisados por um Comitê de Eventos Clínicos e Comitê de Monitoramento e segurança dos dados (CMSD) a fim de julgar a seriedade, gravidade e relação do evento com o dispositivo e / ou procedimento investigativo no próprio hospital.

O estudo foi monitorado pelo CMSD, regulado pelo núcleo de pesquisas do Hospital Metropolitano, em associação com pesquisadores externos vinculados à Universidade Estadual

do Rio de Janeiro, Universidade de Michigan e *City College of New York*, sendo composto por especialistas em reabilitação, ética, estatística e metodologia. Além disso, realizou-se autorização pelo paciente ou seu acompanhante legal da pesquisa, por meio da leitura do TCLE e seu consentimento como um critério absoluto de inclusão na pesquisa.

III. 8 Análise Estatística

Para alcançar os objetivos do estudo, a análise quantitativa foi feita no software R versão 4.4.1, disponível livre e gratuitamente em <https://www.r-project.org/>. O nível de significância adotado em todo estudo foi de 5%. Utilizou-se programa estatístico *GraphPad Prism* versão 8.0 para *Mac* (*GraphPad Software*, San Diego, CA, EUA) para geração dos gráficos.

Inicialmente a amostra foi descrita em sua totalidade, como também por grupo em seus respectivos momentos de observação. Para tanto foram utilizadas medidas como a frequência simples (percentual) para descrever as variáveis qualitativas e para descrever as variáveis quantitativas foram utilizadas a média (desvio padrão), a mediana (intervalo interquartil - IQR), mínimo e máximo. Ainda na descrição da amostra foi feita uma comparação entre os grupos. Para tanto foram utilizados o exato Fisher para testar a hipótese de associação de cada variável qualitativa com os grupos e para as variáveis quantitativas foi utilizado o teste de t para testar a hipótese nula de que não há diferença entre os grupos segundo cada variável quando a variável apresentou comportamento normal, sendo o teste de Shapiro-Wilk e o quando não apresentou.

Para verificar a influência de mais de um fator ao mesmo tempo, nas variáveis de interesse foi considerada a ANOVA de dois fatores mista, em que um fator é o tempo e outro é o grupo. Quando obtivemos algum fator significativo ou alguma de suas interações foi aplicado o teste post-hoc de Tukey. Os pressupostos de normalidade, homoscedasticidade e independência dos erros foram testados e em casos de desvio de algum dos pressupostos foi considerada uma análise não paramétrica foi realizada para o teste de soma dos postos sinalizados de Wilcoxon e o teste de soma de classificação de Kruskal-Wallis foi empregado para comparações entre grupos e intergrupos, respectivamente. Ou ainda foi realizado um teste não complementar utilizando uma categorização da variável resposta e, para tanto, utilizou-se os testes qui-quadrado, Exato de Fisher e teste de Wilcoxon.

O desenho das análises estatísticas está fundamentado em estudos prévios da literatura referentes a ensaios clínicos randomizados e placebo-controlados utilizando neuroestimulação não-invasiva (Brunoni *et al.*, 2012; Boggio *et al.*, 2009; Santana *et al.*, 2023; Andrade *et al.*, 2021).

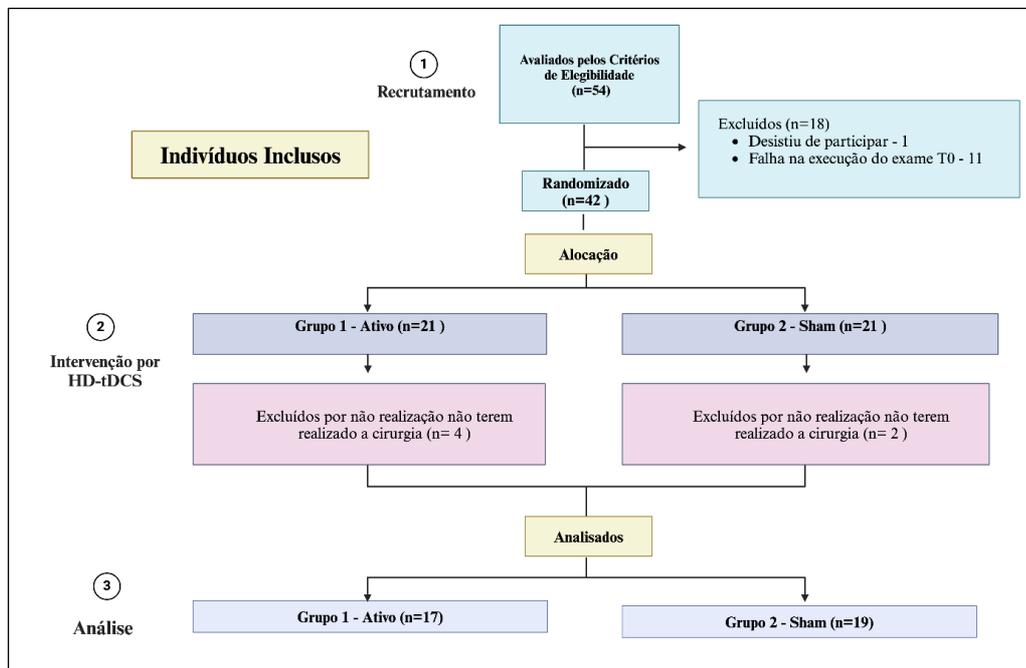
Foram realizadas a probabilidade de sobrevivência para um determinado tempo por meio da curva de Kaplan-Meier com o desfecho alta e o óbito foi considerado como censura (Colosimo e Giolo 2021).

IV RESULTADOS

IV.1 Ensaio Clínico 1: Estudo Pré-Cirúrgico com HD-tDCS em pacientes com HCFEr

A pesquisa foi realizada com 36 pacientes no ambiente hospitalar após aplicados os critérios de elegibilidade da pesquisa, foram excluídos 18 pacientes (6 não realizaram a cirurgia, 1 não concluiu o protocolo da HD-tDCS e 10 tiveram falha na execução dos exames na linha de base). Apesar da perda de 33% dos pacientes incluídos, a amostra incluída na pesquisa alcança adequadamente o cálculo amostral, conforme ilustrado na figura 5.

Figura 5. Indivíduos Incluídos, Randomizados e Acompanhamento dos Participantes do Ensaio Clínico Randomizado 1 - Pré-Cirúrgico com Estímulo *Priming* por HD-tDCS



Fonte: Elaboração Própria, BioRender®, 2024

IV.1.1 Descrição Sociodemográfica, Estilo de Vida e Clínica do Grupo

As características demográficas, de hábitos de vida, nutricionais e clínicas dos grupos (Ativo e Sham) do ECR1 estão dispostas na tabela 2, observa-se que não há diferença entre os grupos, evitando-se assim, desproporcionalidade de características, que poderiam induzir viés nos resultados. A exceção foi a CP, cuja proporção de risco de sarcopenia foi maior no grupo Sham, porém essa condição não é observada nos demais tipos de avaliação antropométrica.

Tabela 2. Dados Demográficos, Estilo de Vida, Comorbidades e Antropométricas ECR 1

Dados	Total (N=36)	Grupo Ativo HD-tDCS (N=17)	Grupo Ativo Sham (N=19)	<i>p</i>
Demográficos e Estilo de Vida				
Sexo (%)				
Masculino	22 (61%)	10 (59%)	12 (63%)	0,79 ^a
Feminino	14 (39%)	7 (41%)	7 (37%)	
Tabagista				
Sim	23 (64%)	11 (65%)	12 (63%)	0,923 ^a
Não	13 (36%)	6 (35%)	7 (37%)	
Consumo de Álcool				
Sim	28 (78%)	15 (88%)	13 (68%)	0,236 ^a
Não	8 (22%)	2 (12%)	6 (32%)	
Prática de Atividade Física				
Sim	14 (39%)	9 (53%)	5 (26%)	0,102 ^a
Não	22 (61%)	8 (47%)	14 (74%)	
Comorbidades Associadas*				
HAS				
Sim	33 (92%)	15 (88%)	18 (95%)	0,593 ^a
Não	3 (8,3%)	2 (12%)	1 (5,3%)	
DAC				
Sim	25 (69%)	11 (65%)	14 (74%)	0,559 ^a
Não	11 (31%)	6 (35%)	5 (26%)	
DM2				
Sim	19 (53%)	10 (59%)	9 (47%)	0,492 ^a
Não	17 (47%)	7 (41%)	10 (53%)	
DRC				
Sim	3 (8,3%)	2 (12%)	1 (5,3%)	0,593 ^a
Não	33 (92%)	15 (88%)	18 (95%)	
IAM				
Sim	3 (8,3%)	0 (0%)	3 (16%)	0,231 ^a
Não	33 (92%)	17 (100%)	16 (84%)	
Classificação NYHA				
Classe I	8 (22%)	4 (24%)	4 (21%)	
Classe II	26 (72%)	13 (76%)	13 (68%)	0,607 ^a
Classe III	2 (5,6%)	0 (0%)	2 (11%)	
Classe IV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	
Antropometria (Estado Nutricional)***				
IMC	26,51 (4,41)	26,02 (4,45)	26,98 (4,45)	0,527 ^c
Baixo Peso	7 (20%)	4 (24%)	3 (17%)	>0,999 ^a
Eutrofia	13 (37%)	6 (35%)	7 (39%)	
Sobrepeso/Obesidade	15 (43%)	7 (41%)	8 (44%)	
CB	30,27 (3,70)	29,86 (3,48)	30,63 (3,94)	0,542 ^c
Desnutrição	12 (33%)	6 (35%)	6 (32%)	0,79 ^a
Eutrofia	20 (56%)	10 (59%)	10 (53%)	
Sobrepeso/Obesidade	4 (11%)	1 (5,9%)	3 (16%)	
CP	32,50 (4,33)	32,00 (3,50)	33,00 (4,50)	0,042 ^a
Adequado	11 (31%)	8 (47%)	3 (16%)	
Risco de Sarcopenia	25 (69%)	9 (53%)	16 (84%)	0,296 ^a
Prega Adutora (Esquerda)	12	12,00 (4-62)	9,00 (4,8-17)	0,455 ^d
Eutrofia	20 (56%)	11 (65%)	9 (47%)	
Risco para Desnutrição	20 (56%)	11 (65%)	9 (47%)	
Prega Adutora (Direita)	10,00 (4-49)	11,00 (4-49)	10,00 (4,9-17)	0,407 ^d
Eutrofia	12 (35%)	4 (24%)	8 (47%)	0,151 ^a
Risco para Desnutrição	22 (65%)	13 (76%)	9 (53%)	

(Continuar)

				(Continuação)
Prega Cutânea Tricipital	12,79 (5,36)	11,97 (5,38)	13,53 (5,38)	0,391^c
Desnutrição	18 (50%)	9 (53%)	9 (47%)	0,793 ^a
Eutrofia	4 (11%)	1 (5,9%)	3 (16%)	
Sobrepeso/Obesidade	14 (39%)	7 (41%)	7 (37%)	
Circunferência Muscular do Braço	26,34 (3,34)	26,17 (3,93)	26,47 (2,94)	0,813^c
Desnutrição Leve	2 (6,1%)	1 (7,1%)	1 (5,3%)	>0,999 ^a
Desnutrição Moderada/Grave	14 (42%)	6 (43%)	8 (42%)	
Eutrofia	17 (52%)	7 (50%)	10 (53%)	

* HAS - Hipertensão Arterial Sistêmica / DAC - Doença Arterial Coronariana / DM2- Diabetes tipo 2 / Infarto Agudo do Miocárdio

** New York Heart Association

***IMC - Índice de Massa Corporal / CP - Circunferência da Panturrilha

Referente aos testes qui-quadrado^a, exato de fisher^b, teste t^c ou wilcoxon^d apresentando p significativo com valores $\leq 0,05$

Fonte: Elaboração Própria, 2024

Observou-se que a mediana da idade do grupo foi de 68,0 (IIQ 10,0) sem diferença estatística entre os grupos ($p > 0,05$). Verifica-se que há uma proporção de 61% do sexo masculino, 64% tabagista, 78% fazem uso de álcool e 61% que não pratica atividade física. Com elevada proporção de HAS (92%), de DAC (69%) e de DMII (53%).

Um outro agravante observado é alta proporção de distrofia no grupo - desnutrição, sobrepeso e obesidade - para escalas distintas. Assim sendo, é possível analisar que para variáveis de triagem nutricional, como CB e CP, a distrofia alcança de 33 a 69% dos casos. Quando analisamos por parâmetros mais sensíveis como PA e PCT a distrofia alcança níveis mais elevados no grupo estudado, sendo de 50 a 65%.

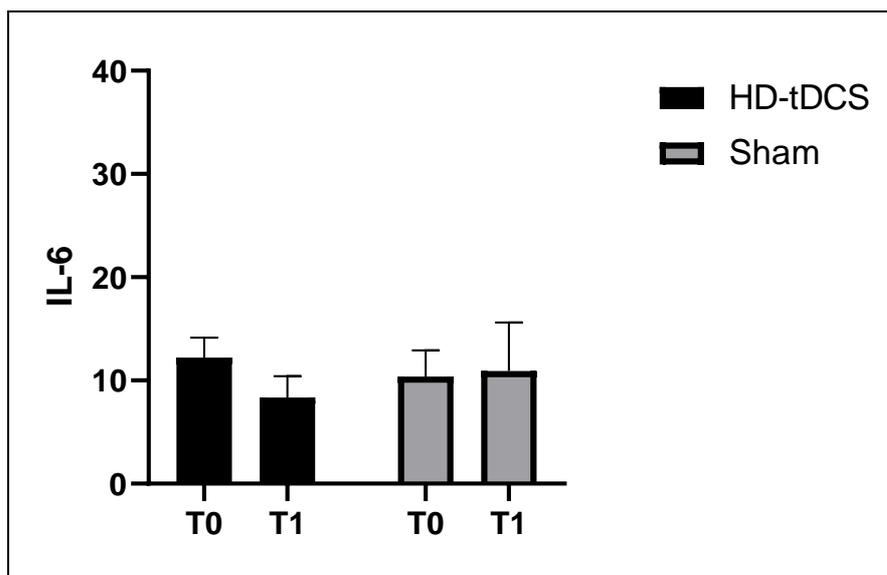
Ou seja, a população de estudo, apresentou na linha de base elevada proporção de fragilidade por tratar-se de um público medianamente idoso, e ainda para os quesitos de antropometria, comorbidades pré-existent e hábitos de vida associados a uma doença cardíaca em condição crônica avançada e com indicação de tratamento cirúrgico.

IV.1.2 Desfecho Primário do Ensaio Clínico Randomizado 1

Para a análise da associação das médias de IL-6 entre os grupos e nos grupos ativo e sham, uma vez que foram rompidas a prerrogativa homogeneidade de variância para realização de teste Anova, realizou-se análise não paramétrica e observou-se significância estatística para o tempo e entre os sujeitos. Ou seja, ao analisarmos a comparação das medianas pelos grupos (HD-tDCS ativo e Sham - corrente simulada) nos dois tempos - do início (T0) e fim do protocolo (T1) - e antes do procedimento cirúrgico, observamos que a IL-6 apresentou redução no grupo ativo e após o protocolo de HD-tDCS entre o tempo e entre as intervenções [(Z=-2,068; $p < 0,039$; $\eta^2 = 0,267$)] reduzindo a mediana 8,35 pg/mL (IIQ4,15) para mediana 4,70

pg/mL (IIQ3,95). Enquanto o grupo sham teve uma redução menor, com a mediana no T0 de 10,90pg/mL (IIQ9,85) e no T1 de 8,80 pg/mL (IIQ12,75). Conforme apresentado na figura 6.

Figura 6. Análise das Comparações por Mediana com Intervalo de Confiança da Interleucina-6 entre os Grupos de Intervenção do Ensaio Clínico Randomizado 1 - HD-tDCS *Priming* em Pacientes com Insuficiência Cardíaca com Fração de Ejeção Reduzida e em Internamento Pré-Cirúrgico



Análise de Wilcoxon para variáveis não paramétricas ($F = -2,068$; $p = 0,039$; $\eta^2 = 0,267$)
 Fonte: Elaboração Própria, 2024

IV.1.3 Desfechos Secundários do Ensaio Clínico Randomizado 1

Foram observadas as variáveis inflamatórias (PCR, TNF- α), de injúria de órgãos e cardíaca (DHL e NT-Pró-BNP), nutricionais (B12, MMA e HCY), série vermelha do sangue (hemoglobina, hematócrito e hemácias) e a Relação Neutrófilo/Linfócito entre os grupos e entre o tempo. Foi observada significância estatística na DHL, esta apresentou redução no grupo ativo e após o protocolo de HD-tDCS entre o tempo e entre as intervenções [($Z = -2,02$; $p < 0,028$; $\eta^2 = 0,14$)] reduzindo a mediana 416 U/L (IIQ176,0) para mediana 346 U/L (IIQ141,0). Enquanto o grupo sham houve aumento da taxa, com a mediana no T0 de 394,0U/L (IIQ68,5) e no T1 de 423,0 U/L (IIQ158,0). Conforme apresentado na tabela 3.

Tabela 3. Análise Comparativa entre os Tempos do Ensaio Clínico Randomizado1 (T0-T1) e entre os Grupos Ativo e Placebo para Intervenção por HD-tDCS em Pacientes com ICFEr no Período Pré-Operatório

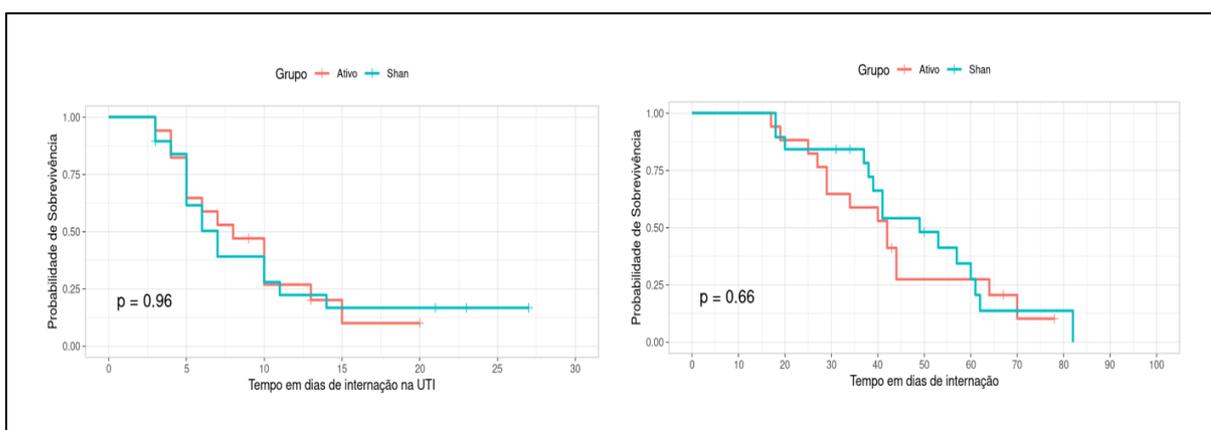
Dados	Linha de Base (N=36)		p*
	Grupo 1 - HD-tDCS (N=17)	Grupo 2 – Sham (N=19)	
Desfecho Primário			
Interleucina-6 (pg/mL; Médiana/IIQ)			
T0	8,35 (2-24,5)	10,90 (2,2-149)	0,039 ^b
T1	4,70 (3-9,4)	8,80 (2-124)	
Desfechos Secundários			
Hemácias (milhões/μL, Média/DP)			
T0	4,35 (0,52)	4,26 (0,46)	0,445 ^a
T1	4,32 (0,49)	4,04 (0,63)	
Hemoglobina (g/L, Média/DP)			
T0	12,58 (1,69)	12,66 (1,61)	0,512 ^a
T1	12,41 (1,54)	11,95 (2,03)	
Hematócrito (% ,Média/DP)			
T0	36,34 (4,90)	36,47 (4,23)	0,470 ^a
T1	36,05 (4,58)	34,49 (5,76)	
Razão Neutrófilo Linfócito (RNL) Média/DP			
T0	4,35 (1,99)	3,57 (2,10)	0,100 ^a
T1	3,85(2,51)	3,83(2,07)	
NT-Pró-BNP (pg/mL; média/DP)			
T0	1.074,60 (860,30)	863,60 (1.537,20)	0,533 ^a
T1	873,90 (582,60)	1.162,50 (1.433,95)	
PCR (mg/L; média/DP)			
T0	4,55 (23,20)	5,80 (15,50)	0,057 ^a
T1	3,41 (5,86)	6,24 (36,36)	
TNF-α (pg/mL; média/DP)			
T0	11,80 (4,33)	13,05 (6,00)	0,262 ^a
T1	12,00 (7,30)	10,40 (6,11)	
DHL (U/L; média/DP)			
T0	415,47 (119,71)	504,50 (126,94)	0,028 ^b
T1	346,00 (141,00)	423,00 (158,00)	
Ácido Metil Metilmalônico (μmol/L, Média/DP)			
T0	0,25 (0,19)	0,24 (0,28)	0,840 ^a
T1	0,23 (0,14)	0,33 (3,36)	
Homocisteína (μmol/L, Média/DP)			
T0	11,87 (4,33)	10,17 (3,57)	0,757 ^a
T1	12,16 (4,08)	11,05 (3,85)	
B12 (pg/mL, Média/DP)			
T0	372,00 (300,00)	297,00 (125,25)	0,977 ^a
T1	342,50 (202,50)	293,00 (72,50)	
Selênio (μg/L, Média/DP)			
T0	91,50 (22,92)	86,76 (17,97)	0,601 ^a
T1	89,05 (30,08)	90,05 (20,69)	
Magnésio (mg/dL Média/DP)			
T0	1,99 (0,35)	2,11 (0,31)	0,947 ^a
T1	1,90 (0,20)	1,90 (0,25)	

a – Realizados teste T para uma amostra / b – realizados teste de Wilcoxon para uma amostra para variáveis não-normais

Fonte: Elaboração Própria, 2024

Também foi observada análise de sobrevivência para os dias de internamento e dias de internamento na UTI, dessa forma foram construídas duas Curvas de Kaplan-Meier por grupo e não foram observadas diferenças significativas na probabilidade de alta entre os grupos de intervenção por HD-tDCS no desfecho dias de internamento (geral e UTI), mas pode-se dizer que ambos os grupos apresentaram a probabilidade de 75% de com 30 dias de internamento e de 5 dias para alta na UTI. Tais gráficos estão dispostos na figura 7.

Figura 7. Análise de Sobrevivência, Curvas de Kaplan-Meier do Ensaio Clínico Randomizado 1 entre os Grupos (HD-tDCS e Sham) e os Dias de Internamento e Internamento na UTI



Fonte: Elaboração Própria, 2024

Sequencialmente, foram observadas as os parâmetros do T0 para fins de análise de pelo modelo Cox, sendo este um modelo de sobrevivência para análise de Risco Basal. O modelo de Cox indicou que B12 tem alguma influência na chance de alta, porém essa diferença não se refletiu na taxa de risco.

Tabela 4. Modelo de sobrevivência Cox para Análise de Risco do Ensaio Clínico Randomizado 1 nos Grupos (HD-tDCS e Sham) e os Dias de Internamento e Internamento na UTI

Variáveis pelo Tempo de internação em Dias	HR ¹	95% IC ¹	Valor p
Grupo Ativo	—	—	
Grupo Sham	0,77	0,31; 1,94	0,600
Interleucina	1,00	0,98; 1,01	0,500
NT-Pró-BNP	1,00	1,00; 1,00	0,600

(Continua)

				(Continuação)
B12	1,00	0,99; 1,00		0,014
HCY	0,94	0,82; 1,08		0,400
PCR	1,02	0,99; 1,04		0,150
RNL	0,80	0,57; 1,12		0,200

¹HR = Taxa de risco, IC = Intervalo de confiança

Foi realizada a comparação dos sinais vitais com vistas a observar de forma secundária os efeitos da HD-tDCS nestas variáveis (tabela 5). Assim, não se verificou por meio de análise de comparação para o tempo e entre os grupos diferenças significativas.

Tabela 5. Comparação das Médias dos Dias de Internamento, dos Dias de Internamento na UTI e Sinais Vitais por Grupo de Intervenção da Fase I (HD-tDCS)

Sinais Vitais	Total (N=45)			p
	Média / Mediana (DP/ IIQ)	Grupo Ativo (HD-tDCS) (DP/ IIQ) (n=17)	Grupo Sham (DP/ IIQ) (n=19)	
SpO ₂ , % ^a	95,83 (3,71)	96,58 (1,46)	95,15(4,89)	NS
Frequência Cardíaca (FC), btm/min ^a	73,03 (6,69)	73,76 (7,07)	72,36 (6,99)	NS
Frequência Respiratória (FR), rpm/min ^b	19,52 (2,29)	19,47 (2,64)	19,58 (2,01)	NS
Pressão Arterial Sistólica, mmHg ^a	116,08 (14,25)	119,70 (14,09)	112,84 (13,95)	NS
Pressão Arterial Diastólica, mmHg ^a	70,19 (6,77)	70,47 (6,71)	69,94 (7,00)	NS

btm/min = batimentos por minutos; rpm/min = respirações por minuto / mmHg = milímetro de mercúrio

a - Teste T de Comparação de Médias de variáveis normais

b - Teste de Wilcoxon para comparação de médias de Variáveis não normais (medianas)

Fonte: Elaboração Própria, 2024

Logo, pode afirmar que o grupo apresentou um perfil nos primeiros 5 dias de internamento de e antes do procedimento cirúrgico de em média SpO₂ de 96%, frequência cardíaca aproximada de 73 btm/min e respiratória de 19 rpm;/min , bem como pressão arterial média de aproximadamente 116 por 70 mmHg.

IV.1.4 Resultados de Segurança do Ensaio Clínico Randomizado 1

Os grupos foram acompanhados pelos pesquisadores durante o curso da pesquisa, de forma que foram questionados quanto aos sintomas após cada sessão de HD-tDCS. Observou-se que os sintomas não diferiram entre os grupos [Teste Qui-quadrado de Pearson, p>0,05], implicando que os pacientes não conseguiam identificar se a corrente era simulada ou ativa, exceto no último dia cujo grupo *sham* apresentou maior proporção de partícipes referindo não ter sintomas (68%), enquanto do grupo ativo foi de 12% [Teste Qui-quadrado de Pearson,

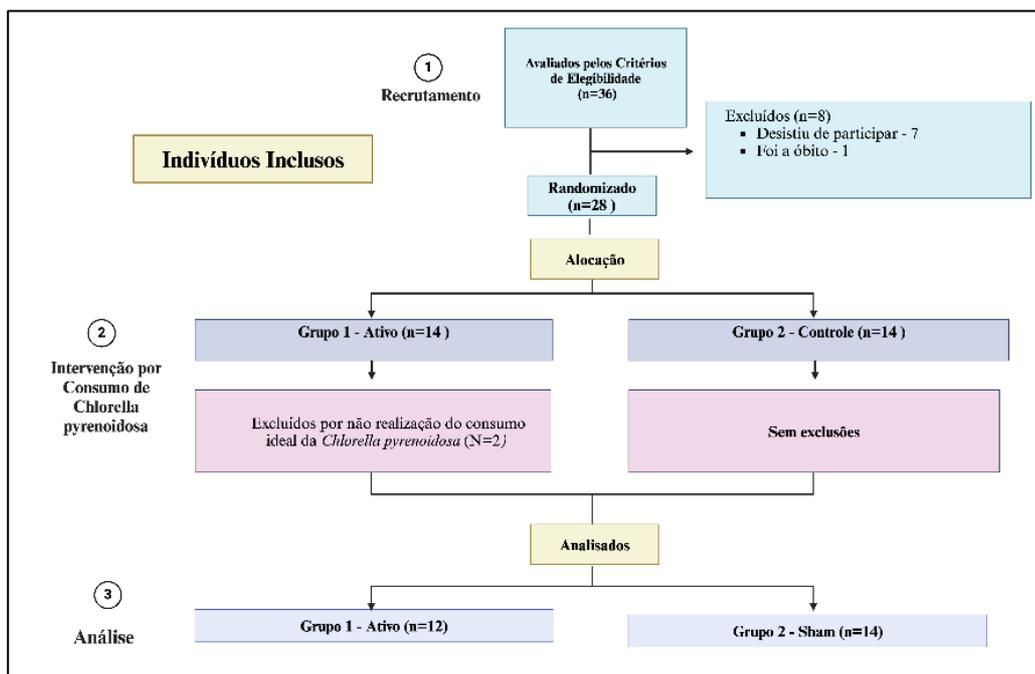
$p < 0,001$]. Não existiram desistências por sintomas quanto a aplicação da técnica ou sinais/sintomas adversos e os sinais/sintomas se mantinham por pouco tempo após aplicação.

Foi observado ainda que em média $4 (\pm 1,52)$ partícipes referiram sintoma de sensação de ardência no couro cabeludo; $7,4 (\pm 3,64)$ referiram coceira no couro cabeludo; $10,8 (\pm 5,67)$ informam formigamento e $13,6 (\pm 2,61)$ informaram não apresentar sintomas. Observou-se a intensidade dos sintomas sendo uma média de $1,33 (\pm 0,72)$ no grupo HD-tDCS e de $1,52 (\pm 1,58)$ no grupo Sham, sem diferença estatística entre os grupos [$F(17,72) = 2,225$; $p = 0,623$], sendo este escore classificado de nenhum sintoma a sintomas leves.

IV.2 Ensaio Clínico 2: Estudo Pós-Cirúrgico com Consumo de *Chlorella pyrenoidosa* em pacientes com HCFer

O Ensaio Clínico Randomizado 2 foi realizado em nível ambulatorial com 26 pacientes que foram incluídos a partir dos participantes do ECR 1, os quais foram cruzados e foram incluídos após análise dos critérios de exclusão do ECR2. Dessa forma, foram excluídos 7 pacientes que não aceitaram fazer parte do protocolo, 1 paciente que foi a óbito e 2 pacientes no período da análise que não haviam consumido a quantidade correta da *Chlorella pyrenoidosa*. O fluxograma da organização do ECR encontra-se na figura 8.

Figura 8: Indivíduos Incluídos, Randomizados e Acompanhamento dos Participantes do Ensaio Clínico 2 - Pós-Cirúrgico com Pacientes tratados com *Chlorella pyrenoidosa*



Fonte: Elaboração Própria, BioRender®, 2024

IV.2.1 Descrição Sociodemográfica, Estilo de Vida e Clínica do Grupo

Os pacientes arrolados no ECR 2 foram avaliados quanto às características demográficas, de hábitos de vida, nutricionais e clínicas dos grupos (Ativo e controle), tais achados estão dispostos na tabela 7. Não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos, de forma que há proporcionalidade entre eles para estas variáveis, reduzindo possíveis vieses.

Tabela 6. Dados Demográficos, Estilo de Vida, Comorbidades e Antropométricas ECR 2

Dados	Total (N=26)	Grupo 1 – <i>Chlorella</i> <i>pyrenoidosa</i> (N=12)	Grupo 2 – Controle (N=14)	<i>p</i>
Demográficos e Estilo de Vida				
Sexo (%)				
Masculino	16 (62%)	7 (58%)	9 (64%)	>0,999 ^a
Feminino	10 (38%)	5 (42%)	5 (36%)	
Tabagista				
Sim	11 (42%)	5 (42%)	6 (43%)	0,951 ^a
Não	15 (58%)	7 (58%)	8 (57%)	
Consumo de Álcool				
Sim	13 (50%)	7 (58%)	6 (43%)	0,431 ^a
Não	13 (50%)	5 (42%)	8 (57%)	
Prática de Atividade Física				
Sim	11 (42%)	4 (33%)	7 (50%)	0,391 ^a
Não	15 (58%)	8 (67%)	7 (50%)	
Comorbidades Associadas*				
HAS				
Sim	24 (92%)	12 (100%)	12 (86%)	0,483 ^a
Não	2 (7,7%)	0 (0%)	2 (14%)	
DAC				
Sim	19 (73%)	9 (75%)	10 (71%)	>0,999 ^a
Não	7 (27%)	3 (25%)	4 (29%)	
DM2				
Sim	15 (58%)	7 (58%)	8 (57%)	0,951 ^a
Não	11 (42%)	5 (42%)	6 (43%)	
DRC				
Sim	2 (7,7%)	1 (8,3%)	1 (7,1%)	>0,999 ^a
Não	24 (92%)	11 (92%)	13 (93%)	
IAM				
Sim	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	--
Não	26 (100%)	12 (100%)	14 (100%)	
Escala NYHA				
Classe I	7 (27%)	3 (25%)	4 (29%)	
Classe II	18 (69%)	8 (67%)	10 (71%)	0,824 ^b
Classe III	1 (3,8%)	1 (8,3%)	0 (0%)	
Classe IV	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	
Antropometria***				
IMC	26,54 (4,50)	27,58 (4,07)	25,80 (4,79)	0,338 ^c
Baixo Peso	5 (21%)	1 (10%)	4 (29%)	
Eutrofia	8 (33%)	4 (40%)	4 (29%)	0,656 ^b
Sobrepeso/Obesidade	11 (46%)	5 (50%)	6 (43%)	
CB	29,74 (3,18)	30,39 (2,78)	29,24 (3,48)	0,366 ^c

(Continua)

(Continuação)

Desnutrição	11 (44%)	3 (27%)	8 (57%)	
Eutrofia	12 (48%)	7 (64%)	5 (36%)	0,419^b
Sobrepeso/Obesidade	2 (8,0%)	1 (9,1%)	1 (7,1%)	
CP	32,50 (13-39)	33,50 (30,5-39)	32,00 (13-38)	
Adequado	18 (72%)	10 (91%)	8 (57%)	0,162 ^d
Risco de Sarcopenia	7 (28%)	1 (9,1%)	6 (43%)	
Prega Adutora (Esquerda)	9,04 (4,37)	9,81 (3,66)	8,44 (4,90)	0,433 ^c
Eutrofia	4 (17%)	1 (9,1%)	3 (23%)	0,596 ^a
Risco para Desnutrição	20 (83%)	10 (91%)	10 (77%)	
Prega Adutora (Direita)	9,80 (4,31)	9,99 (3,25)	9,68 (4,98)	0,858 ^c
Eutrofia	5 (22%)	2 (22%)	3 (21%)	>0,999 ^a
Risco para Desnutrição	18 (78%)	7 (78%)	11 (79%)	
Prega Cutânea Tricipital	12,14 (5,35)	12,02 (5,85)	12,23 (5,15)	0,926 ^c
Desnutrição	13 (52%)	7 (64%)	6 (43%)	
Eutrofia	3 (12%)	2 (18%)	1 (7,1%)	0,285 ^b
Sobrepeso/Obesidade	9 (36%)	2 (18%)	7 (50%)	
Circunferência Muscular do Braço	25,88 (2,88)	26,47 (2,22)	25,47 (3,29)	0,406 ^c
Desnutrição Leve	1 (4,5%)	0 (0%)	1 (7,7%)	
Desnutrição Moderada/Grave	7 (32%)	1 (11%)	6 (46%)	0,117 ^b
Eutrofia	14 (64%)	8 (89%)	6 (46%)	

* HAS - Hipertensão Arterial Sistêmica / DAC - Doença Arterial Coronariana / DM2- Diabetes tipo 2 / Infarto Agudo do Miocárdio

** New York Heart Association

***IMC - Índice de Massa Corporal / CP - Circunferência da Panturrilha

Dados apresentados em média(desvio-padrão) ou mediana (mínimo máximo) referente aos testes qui-quadrado^a, exato de fisher^b, teste t^c ou wilcoxon^d apresentando p significativo com valores ≤0,05

Fonte: Elaboração Própria, 2024

Por tratar-se de uma grupo sem diferença estatística para as proporções das características clínicas da linha de base, nutricionais, demográficas e de estilo de vida, pode-se descrever o grupo como 62% do sexo masculino, com idade média de 65,92 ($\pm 6,31$), há 42% de tabagistas, 50% de etilistas, 42% não praticam atividade física.

Ademais, há elevada proporção de hipertensão no grupo (92%), seguida de DAC (73%) e 58% de DMII, com 70% do grupo nas escalas NYHA II e III. Não obstante, evidencia-se elevada proporção de distrofia em todas as escalas da antropometria, havendo faixa de desnutrição e risco nutricional de até 83% entre as medidas e de sobrepeso e obesidade de até 46% entre as medidas.

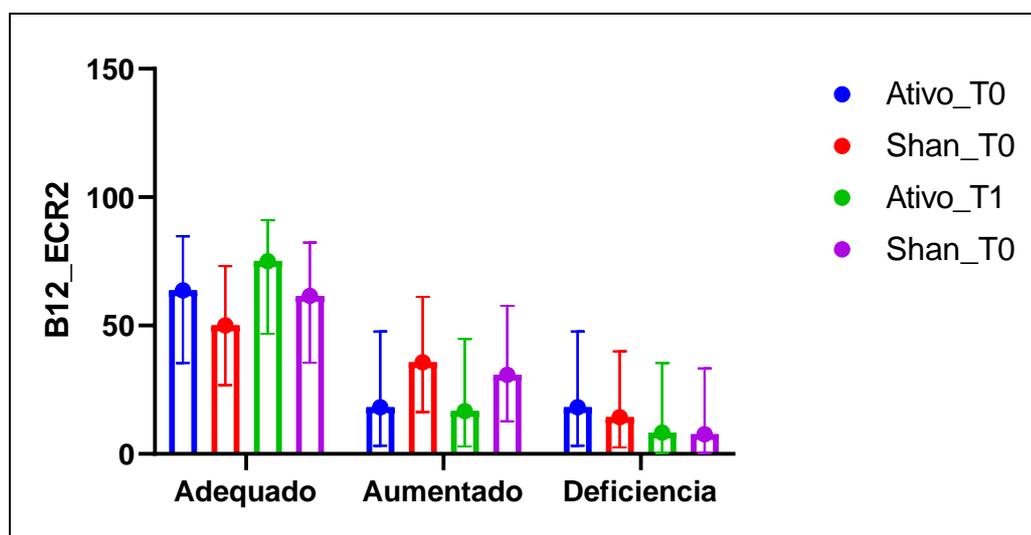
IV.2.2 Desfecho Primário do Ensaio Clínico 2

Foi analisado como desfecho primário do ECR2 os níveis de B12 entre os grupos ativos (com consumo de *Chlorella pyrenoidosa*) e o controle por meio da categorização da B12 em variável qualitativa, uma vez que foram rompidos os critérios estatísticos para realização por

Anova Split-plot. A B12 adequada foi considerada nos níveis de 200 a 400pg/mL, deficiência abaixo de 200pg/mL e aumentada quando acima de 400pg/mL.

Assim, o grupo ativo teve uma proporção de 75% dos níveis de B12 adequados no T1 (IC46,77-91,11) e de 61,54%(IC35,52-82,29) no grupo Sham. Também foram identificados níveis elevados [G1= 16,67% (IC 2,96-44,80); G2=30,67% (IC12,68 – 57,63)] e baixos [G1= 8,33% (IC 0,43-35,88%); G2=7,62% (IC 0,39-33,31)], porém não foi identificada significância estatística pelo teste qui-quadrado entre os grupos e dentre os grupos. A figura 9 apresenta o resultado da B12 nos grupos e nos tempos do ECR2.

Figura 9. Análise das Comparações dos Percentuais de Adequação da B12 (com Intervalor de Confiança) dos Grupos de Intervenção do Ensaio Clínico Randomizado 2 – Consumo de B12 em Pacientes com Insuficiência Cardíaca com Fração de Ejeção Reduzida em Tratamento Pós-Cirúrgico

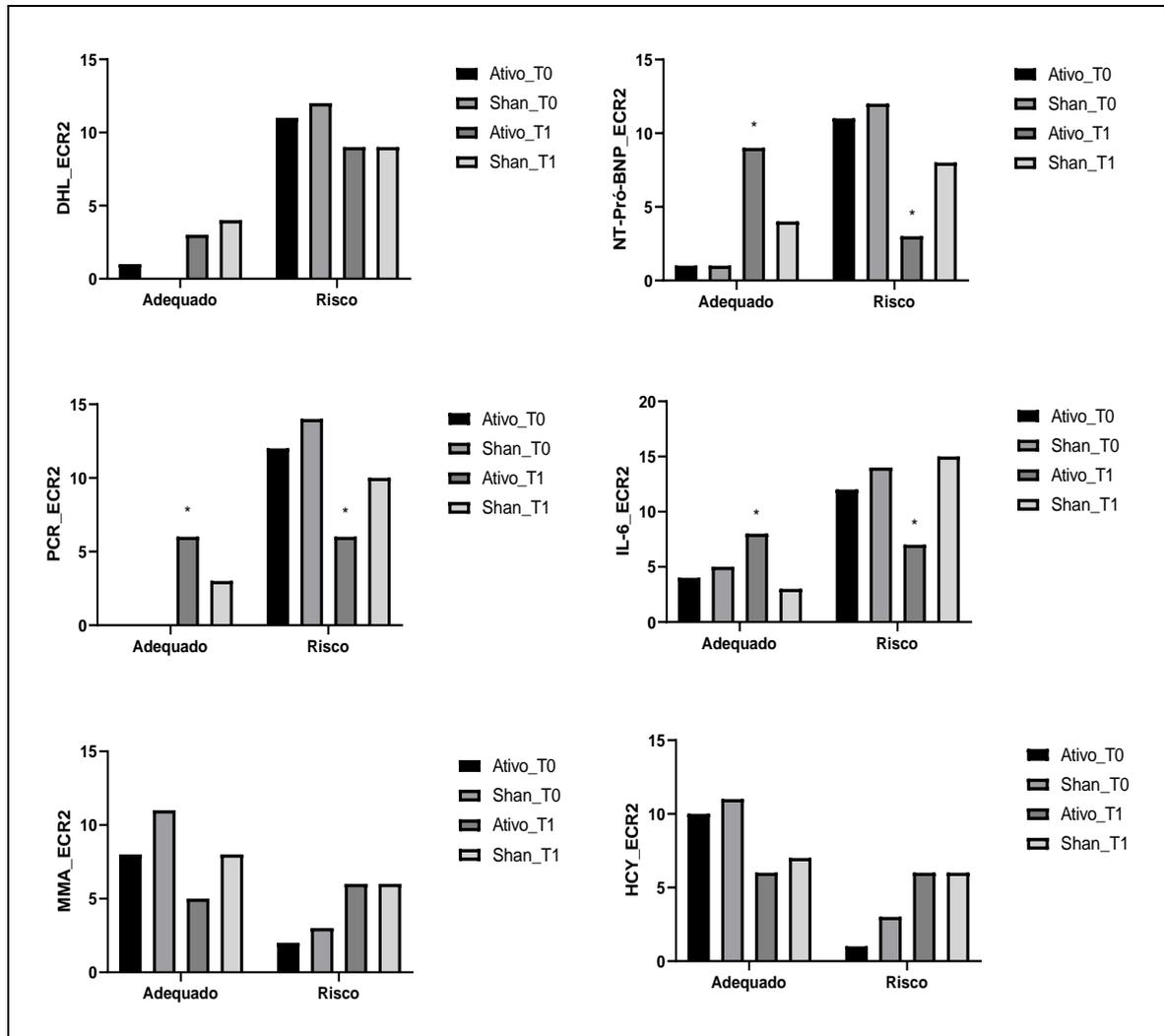


Teste para comparações de proporções nos tempos (qui-quadrado): Teste $X^2(6) = 2,68$; $p = 0,8470$
 Fonte: Elaboração Própria, 2024

IV.2.3 Desfechos Secundários do Ensaio Clínico 2

As análises dos marcadores inflamatórios (IL-6, PCR, TNF- α), marcadores de injúria a órgãos e cardíaca (DHL e NT-Pró-BNP) e os marcadores nutricionais (MMA e HCY) foram realizadas por meio do teste Exato de Fisher por meio da categorização pelos pontos de corte para risco ou adequados, devido ao rompimento dos critérios de normalidade, homoscedasticidade e independência das variáveis quantitativas. Na figura 10 estão apresentados os achados.

Figura 10. Análise das Comparações dos Percentuais de Adequação de Marcadores Inflamatório, Cardíaco e Nutricional nos Grupos de Intervenção do Ensaio Clínico Randomizado 2 – Consumo de B12 em Pacientes com Insuficiência Cardíaca com Fração de Ejeção Reduzida em Tratamento Pós-Cirúrgico



Teste para comparações de proporções nos tempos (Exato de Fisher): [DHL > 328U/L risco de mortalidade na IC; $X^2(3) = 5,549$; $p = 0,135$]; [NT-pró-BNP > 1078pg/mL risco de óbito na IC; ($X^2(3) = 17,19$, $p = 0,006$)]; [PCR > 10mg/dL risco de mortalidade na IC; ($X^2(3) = 14,48$, $p < 0,0002$)]; [IL-6 > 5mg/L risco de mortalidade na IC; $X^2(3) = 8,868$, $p = 0,03$]; [MMA > 0,27 $\mu\text{mol/L}$ deficiência de B12; $X^2(3) = 4,365$, $p = 0,224$]; HCY > 12 $\mu\text{mol/L}$ associação com DCV e com deficiência de B12; $X^2(3) = 6,356$, $p = 0,09$].

Fonte: Elaboração Própria, 2024

Na avaliação do T0 comparado ao T1, ou seja, após o consumo de 30 dias de *Chlorella pyrenoidosa* observou-se redução nos indicadores NT-Pró-BNP, PCR e IL-6, conforme apresentado na figura 10 e de forma mais especificada na tabela 7. Não se observou redução abaixo de 4,3pg/mL para a TNF-alfa em nenhum dos dois grupos e em nenhum dos dois tempos, ou seja, apresentou proporção de 100% na faixa de risco.

Tabela 7. Análise Comparativa de Proporção dos Marcadores Inflamatórios e de Lesão Tecidual e Cardíaca entre os Tempos do Ensaio Clínico Randomizado 2 (T0-T1) e entre os Grupos Ativo e Controle para Intervenção por *Chlorella pyrenoidosa* em Pacientes com ICFEr no Período Pós-Operatório

Dados	Linha de Base T0				Avaliação Final T1				p
	Ativo (N=12)	IC	Controle (N=14)	IC	Ativo (N=12)	IC	Controle (N=14)	IC	
Desfecho Primário									
B12 - n (%)									
Adequado (<148pmol/L)	7 (63,64)	35,38-84,83	7 (50,00)	26,8-73,2	9(75,00)	46,80-91,11	8(61,54)	35,52-82,30	0,874
Risco de Deficiência (>148pmol/L)	2 (18,18)	3,23-47,7	2(14,29)	2,54-39,94	1(8,33)	0,43-35,39	1(7,70)	0,39-33,31	
Aumentado (700pmol/L)	2 (18,18)	3,23-47,7	5(35,71)	16,34-61,23	2(16,67)	2,96-44,80	4(30,80)	12,70-57,63	
Desfechos Secundários									
NT-Pró-BNP - n (%)									
Menor Risco (<1078pmol/L)	1 (8,33)	0,43-35,39	1(7,69)	0,39-33,31	9(75,00)	47,77-91,11	4(33,33)	13,81-60,94	0,0007
Risco de Óbito (>1078pmol/L)	11(91,67)	64,61-99,57	12 (92,31)	66,69-99,60	3(25,00)	8,89-53,23	8(66,67)	30,06-86,19	
DHL - n (%)									
Adequado (<328U/L)	1(8,33)	0,43-35,39	0 (0,00)	0,00-24,25	3(25,00)	8,90-53,21	4(30,77)	12,68-57,63	0,1511
Risco(>328 U/L)	11(91,67)	64,61-99,57	12(100,0)	75,75-100,0	9(75,00)	46,77-91,11	9(69,23)	42,37-87,32	
IL-6 - n(%)									
Adequado (<5pg/mL)	0 (0,00)	0,00-25,00	0 (0,00)	0,00-25,00	4(33,33)	13,81-60,94	3(23,08)	8,18-50,26	0,026
Risco (>5pg/mL)	12 (100,0)	75,75-100,0	12 (100,0)	75,75-100,0	8(66,67)	3006-86,19	10(76,92)	49,74-91,82	
PCR - n(%)									
Adequado (>10mg/dL)	0 (0,00)	0,00-21,53	0 (0,00)	0,00-25,00	6(50,0)	25,38-74,62	3(23,08)	8,18-50,26	0,001
Risco (<10mg/dL)	12 (100,0)	78,50-100,0	14 (100,0)	75,75-100,0	6(50,0)	25,38-74,62	10(76,92)	49,74-91,82	
MMA - n(%)									
Adequado (<0,27µmol/L)	8 (80,0)	49,02-96,45	11(78,57)	52,41-92,43	5(45,45)	21,27-71,99	8(57,14)	32,59-78,52	0,271
Aumentado (>0,27µmol/L)	2(20,0)	3,55-50,99	3(21,43)	7,57-47,59	6(54,54)	28,01-78,73	6(42,86)	23,38-67,41	
HCY - n(%)									
Adequado (>12µmol/L)	10(90,91)	62,26-99,53	11(78,57)	52,41-92,43	6(50,0)	25,38-74,62	7(53,84)	29,14-76,79	0,10
Aumentado (<12µmol/L)	1(9,10)	0,47-37,73	3(21,43)	7,57-47,59	6(50,0)	25,38-74,62	6(46,15)	23,20-70,86	

Teste para comparações de proporções nos tempos (Exato de Fisher) - p significativo com valores ≤0,05

Fonte: Elaboração Própria, 2024

IV.2.4 Resultados de Segurança do Ensaio Clínico 2

Quanto ao consumo da *Chlorella pyrenoidosa*, no último momento da avaliação os pacientes eram orientados a apresentar as cápsulas restantes. Nos envases que cada paciente recebia, havia uma proporção superior de segurança em número de cápsulas (equivalente a cinco dias) considerando possíveis adaptações na data quanto ao retorno, como forma de evitar descontinuidade do tratamento. Desta forma, observou-se que dois pacientes consumiram menos que 50% da oferta de cápsulas, sendo excluídos da análise, representado 4,76% da amostra inicial. Assim, foram analisados ao final da pesquisa 12 pacientes do grupo *C. pyrenoidosa* e estes consumiram uma mediana de 307,5 cápsulas, sendo um valor considerado estatisticamente similar a 300 (meta de consumo) [teste de Wilcoxon, $p < 0,02$]. Quanto a análise físico-química da *Chlorella pyrenoidosa* apresenta-se na tabela 1 os resultados.

Esta condição associa-se a nenhuma desistência por efeitos adversos ou sintomas quando ao consumo da *Chlorella pyrenoidosa* no grupo estudado.

V. DISCUSSÃO

V.1 Alterações de biomarcadores inflamatórios, cardíaco e nutricionais mediante a terapia por HD-tDCS nos pacientes com ICFEr como *Priming* antes do Procedimento Cirúrgico no Ensaio Clínico Randomizado 1

A intervenção com HD-tDCS como *priming* para pacientes pré-cirúrgicos com ICFEr nos apresenta redução em torno de 40% do marcador inflamatório IL-6 entre os tempos iniciais e finais do protocolo, com redução também quando comparados dos grupos ativo e sham com poder médio de associação. Observa-se que houve redução na média de IL-6 após o tratamento adjuvante por neuroestimulação por HD-tDCS nos pacientes ativos com significância estatística, para o qual podemos inferir um padrão de neuromodulação na intervenção e proteção na ICFEr.

Uma vez que, compreende-se a inflamação uma resposta ao estresse, condição progressiva na IC, cuja sinalização pela IL-6 (produzida pelas células T-helper 2) leva ao declínio da contratilidade miocárdica. Em estudo realizado com 883 pessoas com IC aguda a IL-6 foi associada ao NT-pró-BNP e ainda foi considerada um preditor de mortalidade na IC (Perez *et al*, 2021).

Estudo realizado com 40 adultos mais velhos (com idade entre 50 e 70 anos) com osteoartrite do joelho (OA) com a técnica de tDCS, durante 5 dias e sessões de 20 minutos observou redução de marcadores inflamatórios, dentre eles a IL-6 (Suching *et al*, 2019), reforçando estudos no campo da neurociência para o achado da nossa pesquisa com a IL-6. Contudo, sabe-se que existem inúmeros mecanismos inflamatórios, em especial vinculados a IC, mas já há compreensão científica que a neuroestimulação não-invasiva é uma ferramenta promissora para a regulação cortical do Sistema Nervoso Autônomo (SNA) e a regulação da frequência cardíaca (Schmauber *et al*, 2022).

Ademais, corrobora-se com a intervenção por meio da neuroestimulação não-invasiva por HD-tDCS, na área estudada – CPFDLe esquerdo – uma vez que, esta área tem relação com o papel regulatório na atividade cardiovascular autônoma (Guo *et al*, 2022). A inervação cardíaca pelo sistema nervoso simpático (SNS) modula a frequência cardíaca e a contração do músculo cardíaco, bem como a vasculatura periférica é controlada pelo SNS e disfunções autonômicas estão associadas a disfunções em órgãos-alvo como coração, cérebro e vasos (Yugar-Toledo, 2024).

Sabe-se ainda que mecanismos da ICFEr como as anormalidades mitocondriais, hipertrofia cardíaca e mecanismos hiperativação do sistema nervoso simpático (SNS) e o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) levam a uma gradual progressão da doença e manutenção da inflamação e não necessariamente consegue ser resolvido pelos tratamentos atuais (Hoseini *et al*, 2021).

Assim, as alterações de contração da musculatura cardíaca levam a liberação de citocinas inflamatórias pelo remodelamento cardíaco (Scolari *et al*, 2018). É à luz desta perspectiva, que compreendemos que o estímulo anódico ao CPFdL por meio da neuroestimulação por HD-tDCS e em consequência aos neurônios responsáveis pelo controle autônomo cardíaco, refletiram no funcionamento vasomotor, reduzindo a inflamação local e a produção de IL-6, que é observada sistemicamente. Chow e colaboradores (2017) alertam que os marcadores IL-6, TNF- α e PCR tem associação com a IC, porém o marcador mais expressivo é a IL-6. Apresentando, portanto, um resultado promissor quanto efeito *priming* para procedimentos cirúrgicos em pacientes com ICFEr.

Adicionalmente, a pesquisa encontra achados secundários no tocante a redução da DHL no grupo neuroestimulado. A DHL é uma enzima que mensura danos teciduais em órgãos e, portanto, tem valor prognóstico quando comparada a outros marcadores. Em seu estudo, Yamaguchi e colaboradores (2020) observou que pacientes com IC aguda descompensada teve associação com risco de morte em 90 e 180 dias associado a elevação de DHL. No ECR1 os níveis do NT-Pró-BNP estavam elevados em ambos os grupos, inferindo que a redução da DHL apresenta redução da lesão tecidual ao miocárdio no pré-cirúrgico.

A ECR1 avaliou desfechos secundários relacionados á sinais clínicos e tempo de internamento dos pacientes e a sua associação com a variáveis dependentes desta tese. Assim, observou-se que os pacientes apresentavam uma probabilidade de alta em 30 dias e de 5 dias na UTI, por meio da curva de Kepler-Meier. Ademais, observou-se ainda os sinais clínicos no pré-operatório e no desenho comparativo no grupo de intervenção pela HD-tDCS e no grupo Sham foram em média para saturação de oxigênio de 96%, frequência cardíaca de 72btm/min, de frequência respiratória de 20rpm/min e pressão arterial de 116x70mmHg, sem diferença entre os grupos e o tempo da análise (5 dias).

Por seu perfil de alta morbidade, a IC tem uma taxa de internação elevada para o período de um ano, sendo de 31,9% e nesta condição as taxas de mortalidade tendem a duplicar (Murphy *et al*, 2020). Estudo realizado com 3249 pacientes submetidos à cirurgia cardiológica, identificou como risco, e ainda a associação com marcadores inflamatórios, o internamento com mais de cinco dias na UTI e mais de 3 semanas no hospital (Tian *et al*, 2023).

Não obstante, são metas do tratamento para ICFEr o controle da FC e da pressão arterial, uma vez que esta é uma causa de IC, com prevalência de 60% a 89%. E ainda, compreendendo que pacientes com hipertrofia ventricular esquerda com pressão elevada e obesos levam ao prejuízo do débito cardíaco e progressão da doença, desta forma recomenda-se metas pressóricas na IC similares às recomendadas para pacientes com elevado risco cardiovascular (PAS entre 120 e 130 mmHg). (Pereira *et al*, 2021; McDonagh *et al*, 2021).

A FC tanto representa um alvo terapêutico como é um marcador para monitoramento, tendo relação com risco de morte e de admissão hospitalar, devendo estar abaixo de 70bpm/min, já a frequência respiratória deve ser monitorada e na presença do desconforto respiratório (>25rpm/min) deve-se avaliar a ventilação asséptica (Gomes & Pagan, 2020; McDonagh *et al*, 2023).

Assim, observa-se que a HD-tDCS como *priming* para o pré-cirúrgico não interferiu no perfil clínico dos pacientes para FC, FR e PA. Observou-se, portanto, um perfil crônico, porém estável pelo acompanhamento dos cinco dias nos participantes da pesquisa. Ademais, pela cronicidade presente no grupo estudado, observou-se elevado período de internamento dos participantes sendo este um fator de risco para mortalidade pós-cirurgia, o qual não apresentou associação com a HD-tDCS.

Quanto a efeitos adversos da utilização da HD-tDCS o estudo não apresentou perdas de pacientes por esta condição. E a análise de segurança teve maior média de ausência de sintomas. E dentre os sintomas mais relatados está o formigamento. Para os níveis da escala de dor para os sinais e sintomas do uso da HD-tDCS observou-se uma escala média de sintomas de “nenhum a leve” e cujos sintomas desapareciam pouco tempo após a neuroestimulação, e ainda os participantes não conseguiram diferir entre os métodos (ativo ou sham).

Tais achados se aproximam dos observados na pesquisa Reckow e colaboradores (2018) que usaram HD-tDCS com 3mA em 101 idosos de 69,69 anos (DP8,33) e observaram que os sintomas mais frequentes foram formigamento, com relatos de sintomas leves e sem diferença dos sintomas entre os grupos, indicando bom cegamento do método. Ademais, Miller e colaboradores (2023) trabalharam um método com HD-tDCS a partir de modelos individuais de cabeça de imagens anatômicas com adultos e observaram maior excitabilidade do córtex pelo método HD-tDCS, corroborando com a segurança dos achados do ECR1.

V.2 Alterações de Biomarcadores Inflamatórios, Cardíacos e Nutricionais mediante Terapia por *Chlorella pyrenoidosa* no Ensaio Clínico Randomizado 2

O ECR 2 avaliou os níveis de B12 nos pacientes arrolados no estudo a partir do consumo da *Chlorella pyrenoidosa* no grupo ativo comparado a um grupo controle com ICFEr pós-cirúrgico. Não se observou diferença estatística entre o tempo e os grupos, mas um percentual de 75% de nível adequado de B12 no retorno após 30 dias de consumo. De forma associada, observou-se níveis elevados em homocisteína (acima de 12mg/dL) e de MMA (acima de 0,27 µmol/L) nas proporções aproximadas de 50% nos grupos, ambos também sem significância estatística para o tempo avaliado e entre os grupos.

Nesta dinâmica, infere-se que a não diferença entre os tempos inicial e final da pesquisa associando os níveis elevados de MMA e HCY aos níveis de tendência normal no grupo a uma deficiência de B12 subclínica. Nessa condição pode haver uma condição paradoxal, onde a deficiência de B12 pode estar associada a níveis elevados de ácido Metilmalônico elevado e homocisteína elevados com níveis normais ou elevados de B12, sendo que o MMA e a HCY são preditores confiáveis à resposta da B12 (Zulfiqar *et al*, 2019; O’Leary&Samã, 2010; Wolffenbuttel *et al*, 2022).

Tal condição tem como argumento teórico a associação com a liberação de vitamina B12 do armazenamento hepático, diminuição da depuração, regulação positiva da haptocorrina e síntese de transcobalamina, ou diminuição da afinidade da vitamina B12 pelas proteínas transportadoras em situações crônicas de estresse e inflamatórias como doença renal crônica e doença hepática (Flores-Herrero *et al*, 2020; Andrès *et al*, 2013).

Por analogia, não havendo sido encontrados estudos de associação com a IC, compreendemos que os altos níveis sistêmicos de marcadores inflamatórios nos pacientes de ICFEr podem deflagrar outras condições clínicas no organismo, sendo um caminho teórico aumento que altas concentrações plasmáticas de vitamina B12 associadas aos aumentos de MMA e homocisteína, sendo uma condição de cobalaminemia.

Nos desfechos secundários da pesquisa pode-se observar que o tratamento adjuvante por *Chlorella pyrenoidosa* teve associação estatística com a redução da NT-Pro-BNP, da PCR e da IL-6, dessa forma infere-se que o alimento funcional auxiliou na redução de marcadores inflamatórios na ICFEr em pacientes após o procedimento cirúrgico.

Segundo Murphy e colaboradores (2020) os peptídeos natriuréticos tipo B e seu precursor N-terminal pró-B-tipo natriurético (NT-pró-BNP) são recomendados para avaliar a gravidade da IC, podendo auxiliar no prognóstico e estratificar o risco, de forma que, taxas do NT-Pró-BNP menores que 1000pg/mL na ICFEr favorecem a um curso benigno da doença com

menos remodelamento do ventrículo esquerdo levando a menos eventos. Evidenciamos que o grupo que consumiu *Chlorella pyrenoidosa* reduziu a NT-Pro-BNP para níveis médios bem inferiores no retorno de 30 dias pós-cirurgia, apresentado, portando, um efeito benéfico para a proteção cardíaca.

Complementarmente, em seu estudo, Tian e colaboradores (2023), avaliaram a PCR e a RNL de 3249 pacientes e observaram que a estes indicadores foram relacionados com o óbito quando acima de 5mg/L e 3,5 respectivamente, com taxa de mortalidade de 1,69%. No nosso estudo os valores iniciais de PCR e RNL estavam acima desses valores comparados ao estudo de Tian e colaboradores (2023), 5,18ml/L e 4,88, observamos taxa de mortalidade superior também (5,55%). Contudo, os achados dessa tese direcionam para um tratamento adjuvante com melhora nas respostas inflamatórias pós-cirúrgicas.

E ainda, corrobora-se com Bonatto e colaboradores (2022) no tocante aos mecanismos da interação entre a lesão do miocárdio e neuro-humorais compensatórios, uma vez que a ativação do sistema nervoso autônomo (SNA) leva a produção de catecolaminas de forma prolongada, que levam ao processo de liberação de citocinas inflamatórias e ativação da inflamação crônica de forma sistêmica. Esta condição leva a uma hiperativação simpática, que contribui com a aumento da contratilidade, da frequência cardíaca e da vasoconstrição sistêmica, uma diminuição da complacência venosa e remodelamento do ventrículo.

A IL-6 tem associação com a ICFEr para fins de prognóstico negativo na sua elevação. A IL-6, que pertence a família de pleiotrópicos e citocinas, estão envolvidas com a regulação dentre outros fatores com a função dos macrófagos, função dos neurônios e hipertrofia cardíaca (Plenz *et al*, 2001).

Dessa forma, infere-se o papel de proteção cardíaca e neurológica da *Chlorella pyrenoidosa*. E reforça-se por meio das análises de segurança realizadas por meio das análise físico-química à *Chlorella pyrenoidosa* utilizada nesse estudo, associada a nenhum paciente com efeitos adversos registrados.

V.3 Achados em Comum nos Ensaio Clínicos Randomizados

Ao analisar o perfil demográfico, de estilo de vida, de comorbidades, e nutricional observa-se pela ótica do perioperatório observa-se em comum nos dois ECRs um perfil de idade média de idosos, sem diferença estatística para sexo, para os hábitos de tabagismo e etilismo, para baixa atividade física, para comorbidades como HAS, doença arterial coronariana e diabetes tipo 2, além de proporções elevadas de desnutrição, sobrepeso e obesidade.

Nesse sentido, Teo e Rafik (2021) alertam que principal causa de morbimortalidade no mundo foi a doença cardiovascular (DCV), com 80% originando-se de países menos desenvolvidos e de baixa renda, e, os fatores de risco identificados foram como tabagismo, hipertensão, diabetes e dislipidemia. Ademais, alerta-se ainda para o risco para cardiopatia isquêmica, acidente vascular encefálico (AVE), doença renal crônica (DRC) associados com valores de pressão arterial (PA) elevados levando a mortalidades precoces (Barroso *et al.*, 2021).

Ademais, a Doença Arterial Coronária (DAC) ou Doença Isquêmica do Coração (DIC) são condições clínicas adversas (sintomáticas ou não) relacionadas à redução do fluxo sanguíneo para o músculo cardíaco. A causa mais comum da DAC é a doença aterosclerótica e a DAC é uma causa comum da Insuficiência cardíaca com fração de ejeção ventricular esquerda reduzida ou preservada, arritmias ventriculares e parada cardíaca súbita (Oliveira & Ribeiro, 2020).

Dessa forma, observa-se no grupo estudado um perfil de comorbidades e agravos semelhantes ao apresentado na literatura. E ainda mais, que tais condições associadas a ICFER e a idade avançada presente no grupo favorecem a progressão da doença cardíaca.

Ainda nessa perspectiva, a DAC teve prevalência de 68,9% na população da pesquisa e de 88,9% de HAS. E, a literatura vem apresentando que a doença coronariana tem alta prevalência na relação com o óbito atribuído à doença cardíaca, seguida da hipertensão arterial e insuficiência cardíaca, os quais contribuem com a aterogênese, tal condição induz o estresse oxidativo e a inflamação, e estas condições relacionadas ao agravamento dos quadros e que levam ao internamento (Frantz *et al.*, 2018; Schuetz *et al.*, 2021).

Pelo perfil clínico-laboratorial da linha de base da pesquisa observou-se equilíbrio nos marcadores com relação com a IC para selênio, magnésio e B12 com diferenças de médias positivas em relação a taxa de referência e com significância estatística.

Em relação ao perfil antropométrico, estudos indicam que a desnutrição e a sarcopenia são frequentes na IC e insuficiência cardíaca e tem associação com desfechos clínicos e redução da sobrevida, nesse sentido Herrera-Martínez e colaboradores (2023) identificaram uma desnutrição basal de 30% nos seus pacientes de estudo e 65,8% de sarcopenia. No nosso estudo, a sarcopenia teve uma prevalência em torno de 20% nos dois ECRs e a desnutrição proporções acima de 30%.

No tocante ao sobrepeso e a obesidade no grupo estudado, observa-se que há prevalência de obesidade e diabetes tipo 2 em pacientes com IC e têm associação com alta carga de sintomas nos dois ECRs. Estudo realizado com 616 pacientes com ICFEp com obesidade e

diabetes tipo 2 utilizou semaglutida como medicação associada e observou reduções nos sintomas relacionados à insuficiência cardíaca e limitações física associada a redução de peso (Kosiborod *et al*, 2024).

Em ambos ECRs houve alteração em marcadores inflamatórios e de injúria. A cirurgia cardíaca desencadeia processos inflamatórios os quais promovem um estado de inflamação crônica observada no pré-operatório e a condição inflamatória também é observada no pós-operatório (Liu *et al*, 2023). Assim, de forma associada, sabe-se que a inflamação é um fator patogênico relevante da doença cardíaca e o procedimento cirúrgico, que faz parte do tratamento da ICFEr, tem incidência de complicações relacionadas ao pós-cirúrgico, com poucos estudos neurocomportamentais e de indicadores bioquímicos (Macdonagh *et al*, 2021; Tian *et al*, 2023).

E ainda, Gomes e Pagan (2020) alertam para a necessidade da adoção de outras medidas para controle da IC, além das altas doses de medicamentos, como forma de conduzir um prognóstico favorável e qualidade de vida. No nosso caso, observou-se redução em múltiplos marcadores (IL-6 e DHL) com HD-tDCS *priming* no pré-operatório e (PCR, IL-6 e NT-Pró-BNP) no pós-operatório com *Chlorella pyrenoidosa*, podendo considerá-las terapias adjuvantes que favorecem no perioperatório não imprimindo o consumo de mais medicamentos nestes pacientes “polimedicamentados”.

Ou seja, marcadores inflamatórios como PRC e IL-6 tiveram redução e a NT-Pró-BNP, conferindo redução da lesão ao miocárdio, quando associados ao consumo de *Chlorella pyrenoidosa* pelo período de 30 dias em pacientes de ICFEr pós-cirúrgicos. E ainda a IL-6 também sofreu modulação em pacientes neuroestimulados antes do procedimento cirúrgico por 5 dias com HD-tDCS *priming*. Desta forma infere-se que o tratamento proposto atua pela via nutrição/alimentação e pela via da neuroestimulação levam a modulação de marcadores inflamatórios pré e pós-cirúrgico de pacientes com ICFEr de forma promissora para uma forma adjuvante para o tratamento para o período pericirúrgico.

V.4 Limitações da Pesquisa e Considerações para Futuras pesquisas

Esta tese foi composta por dois ensaios clínicos randomizado, controlados e que apesar dos achados relevantes, sabemos dos poucos estudos da área da nutrição e neurociências e na área da nutrição e ICFEr, são mais raros ainda estudos envolvendo as três áreas, por isso compreende-se a necessidade de novas pesquisas apontando para essas áreas na ICFEr, considerando inclusive as elevadas taxas de morbidade, óbito, baixa qualidade de vida e alta

incidência de internamento, com internamentos mais prolongados e associação das duas terapêuticas.

A pesquisa não apresentava objetivo de avaliar a condição em questão associada ao sexo, uma vez que o estudo foi randomizado e a proporção de sexos não se difere estatisticamente. Contudo, Zhazykbayeva e colaboradores (2023) alertam às diferenças biológicas relacionadas ao sexo e prognóstico da IC, indicando que há diferença entre pressão de enchimento ventricular esquerda (VE) e rigidez diastólica em comparação com pacientes com ICFEP do sexo. Nesse sentido, compreendemos a necessidade de pesquisa direcionando os achados para observação se há impacto pelo sexo.

Ademais, estudos na área da genética e ciências ômicas, mais especificamente metabolômica, podem demonstrar por meio de polimorfismos e ótica metabólica os achados desta pesquisa. Scola e colaboradores (2021) identificaram polimorfismos na IL-6 e verificaram diferenças entre a etnia dos participantes e alterações específicas no tipo de inflamação na IC, podendo inclusive ser estudos utilizados para favorecer as abordagens e decisões cirúrgicas mais apropriadas em indivíduos positivos por genótipo.

E ainda, nosso estudo avaliou o período de internamento para procedimento cirúrgico e 30 dias após este. Mas, Bonatto e colaboradores (2022), alertam que as taxas de hospitalização têm associação com pioras após um ano e ainda que as taxas de mortalidades um ano após o internamento foram de 7,2% em seu estudo. Nesse sentido, observa-se como relevante o acompanhamento dos pacientes por uma coorte de tempo maior para observação dos resultados em longo prazo. E mais ainda ampliando o consumo em dias da *Chlorella pyrenoidosa* para observação de possíveis mudanças no ácido Metilmalônico, homocisteína e B12, conforme proposto por Merchant e colaboradores (2015).

VI. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A ICFEr estudada nesta pesquisa apresentou por meio dos pacientes um perfil de biomarcadores e avaliação antropométrica com agravamento para a doença na linha de base da dos ECRs, compondo um perfil similar do perioperatório entre os pacientes. Havendo no grupo da pesquisa proporção elevada de comorbidades (HAS, DM e DAC), distrofia, internamento hospitalar médio e de tempo de internação na UTI.

Observou-se também melhora nos marcadores inflamatórios e cardíaco por meio das terapias da pesquisa, havendo redução no momento pré-cirúrgico com indução pela HD-tDCS na IL-6 e ainda no período pós-cirúrgico (30 dias após a alta) na PCR, IL-6 e NT-Pró- BNP pelo consumo da *Chlorella pyrenoidosa*.

Desta forma, esta tese apresentou achados de proteção cardíaca e cerebral para pacientes com ICFEr por meio de duas terapias adjuvantes de forma que compõe um achado para o tratamento não medicamentoso no período perioperatório, sendo estas a HD-tDCS e *Chlorella pyrenoidosa*, indicando um perfil neuromodulador (preparatório para cirurgia e de acompanhamento pós-cirúrgico, respectivamente) e indutor da proteção cardiovascular para ICFEr pelo consumo da *Chlorella pyrenoidosa*.

No entanto, não foram observadas modificações no tocante a HCY, MMA e B12 podendo haver relação com o tempo de consumo da *C. pyrenoidosa* e a manutenção de uma deficiência de B12 subclínica nos pacientes pós-cirúrgicos num período de acompanhamento de 30 dias.

Reforça-se a necessidades de mais estudos clínicos para a tríade nutrição-coração-cérebro, podendo haver desmembramentos para grupos maiores e pesquisas no campo da genética, perfil metabômico, com grupos específicos e de acompanhamento em mais longo prazo.

Por fim, compreende-se a relevância dos achados desta tesa, no tocante a observação de uma linha de pesquisa com poucas pesquisas conduzidas sobre o tema, pela gravidade e impacto da ICFEr na qualidade de vida dos pacientes e morbimortalidade dos pacientes, sendo, portanto, uma pesquisa de relevância quanto ao tema e a relevância social.

REFERÊNCIAS

- Agostinho, J. R., Gonçalves, I., Rigueira, J., Aguiar-Ricardo, I., Nunes-Ferreira, A., Santos, R., Guimarães, T., Alves, P., Cunha, N., Rodrigues, T., André, N., Pedro, M., Viegas, F., Pinto, F. J., & Brito, D. (2020). Protocol-Based Follow-up Program for Heart Failure Patients: Impact on prognosis and quality of life. *Rev. Port. Cardiol*, 38(11), 755-764. <https://doi.org/10.1016/j.repc.2019.03.006>
- Alves, M. J. O. (2015). Limites éticos das novas técnicas de neuromodulação na pesquisa, na clínica e na propaganda. *Debates Em Psiquiatria*, 5(4), 18–22. <https://doi.org/10.25118/2763-9037.2015.v5.163>
- Andrade, S. M., Silvestre, M. C. de A., França, E. É. T. de, Queiroz, M. H. B. S., Santana, K. de J., Madruga, M. L. L. H., Mendes, C. K. T., Oliveira, E. A. de, Bezerra, J. F., Barreto, R. G., Silva, S. M. A. F. da, Sousa, T. A. de, Sousa, W. C. M. de, Silva, M. P. da, Ribeiro, V. M. C., Lucena, P., Beltrammi, D., Catharino, R. R., Caparelli-Dáquer, E., Hampstead, B. M., & Bikson, M. (2022). Efficacy and safety of HD-tDCS and respiratory rehabilitation for critically ill patients with COVID-19: The HD-RECOVERY randomized clinical trial. *Brain Stimulation*, 15(3), 780–788. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2022.05.006>
- Arul-Anadam, A. P., Loo, C., & Sachdev, P. (2009). Transcranial direct current stimulation - what is the evidence for its efficacy and safety? *F1000 Medicine Reports*, 1. <https://doi.org/10.3410/M1-58>
- Arruda, V. L. de, Machado, L. M. G., Lima, J. C., Silva, P. R. de S. Tendência da mortalidade por insuficiência cardíaca no Brasil: 1998 a 2019 Trends in mortality from heart failure in Brazil: 1998 to 2019. <https://doi.org/10.1590/1980-549720220021.2>
- Azabou, E., Bao, G., Heming, N., Bounab, R., Moine, P., Chevallier, S., Chevret, S., Resche-Rigon, M., Siami, S., Sharshar, T., Lofaso, F., & Annane, D. (2020). Randomized Controlled Study Evaluating Efficiency of Low Intensity Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS) for Dyspnea Relief in Mechanically Ventilated COVID-19 Patients in ICU: The tDCS-DYSP-COVID Protocol. *Frontiers in medicine*, 7, 1-9. [10.3389/fmed.2020.00372](https://doi.org/10.3389/fmed.2020.00372)
- Balakrishnan Mahesh, Prasanth Peddaayyavarla, Lay Ping Ong, Sonya Gardiner, Samer A.M. Nashef, Cardiac surgery improves survival in advanced left ventricular dysfunction: multivariate analysis of a consecutive series of 4491 patients over an 18-year period, *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, Volume 50, Issue 5, November 2016, Pages 857–866, <https://doi.org/10.1093/ejcts/ezw134>
- Baptista, A. F., Baltar A., Okano A. H., Moreira A., Campos A. C. P., Fernandes A. M., Brunoni A. R., Badran B. W., Tanaka C., de Andrade D. C., Machado D. G. S., Morya E., Trujillo E., Swami J. K., Camprodón J. A., Monte-Silva K., Sá K. N., Nunes I., Goulardins J. B., ... Zana Y. (2020). Applications of Non-invasive Neuromodulation for the Management of Disorders Related to COVID-19. *Frontiers in Neurology*, 11, 1-18. [10.3389/fneur.2020.573718](https://doi.org/10.3389/fneur.2020.573718)
- Barbagallo, M., Veronese, N., & Dominguez, L. J. (2021). Magnesium in Aging, Health and Diseases. *Nutrients*, 13(2). <https://doi.org/10.3390/nu13020463>

- Barbosa, K. B. F., Costa, N. M. B., Alfenas, R. de C. G., de Paula, S. O., Minim, V. P. R., & Bressan, J. (2010). Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Revista de Nutrição*, 23(4), 629–643. <https://doi.org/10.1590/S1415-52732010000400013>
- Barbosa-Ferreira, J. M., & Oliveira, A. A. de. (2022). Avaliação de Várias Vias Fisiopatológicas no Prognóstico da Insuficiência Cardíaca com Fração de Ejeção Reduzida: Vendo Além do Coração. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 118(6), 1116–1117. <https://doi.org/10.36660/abc.20220314>
- Barroso, W. K.S. *et al.*, (2021). Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial – 2020. *Arq Bras Cardiol.* 116(3), 516-658, <https://doi.org/10.36660/abc.20201238>
- Batista, K. S., Cintra, V. M., Lucena, P. A. F., Manhães-de-Castro, R., Toscano, A. E., Costa, L. P., Queiroz, M. E. B. S., de Andrade, S. M., Guzman-Quevedo, O., & Aquino, J. S. (2022). The role of vitamin B12 in viral infections: a comprehensive review of its relationship with the muscle-gut-brain axis and implications for SARS-CoV-2 infection. *Nutrition reviews*, 80(3), 561–578. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuab092>
- Bennabe, D., & Haffen, E. (2018). Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS): A Promising Treatment for Major Depressive Disorder? In *Brain Sciences* (Vol. 8, Issue 5). <https://doi.org/10.3390/brainsci8050081>
- Bian L, Zhang L, Huang G, *et al.* Efeitos da estimulação de explosão de Theta Intermitente com TDCS de alta definição na função do membro superior em pacientes heméticos com AVC: um estudo controlado randomizado. *Neurorreabilitação e Reparação Neural*. 2024;38(4):268-278. doi: 10.1177/15459683241233259
- Bikson, M., Datta, A., Rahman, A., & Scaturro, J. (2010, December). Electrode montages for tDCS and weak transcranial electrical stimulation: role of “return” electrode’s position and size. *Clinical Neurophysiology: Official Journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*. Netherlands. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2010.05.020>
- Bito, T., Okumura E., Fujishima, M., & Watanabe F. (2020). Potential of Chlorella as a Dietary Supplement to Promote Human Health. *Nutrients*, 12(9), 2524-2546. [10.3390/nu12092524](https://doi.org/10.3390/nu12092524)
- Bussab, W. O., e P. A. Morettin. 2023. Estatística básica. Em Estatística básica, 10a ed. SaraivaUni.
- Brasil. Ministério da Saúde. (2021). *Fascículo 2 Protocolos de uso do Guia Alimentar para a população brasileira na orientação alimentar da população idosa*. Brasília: Ministério da Saúde.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. (2014). *Guia alimentar para a população brasileira*. 2. Ed. Brasília: Ministério da Saúde.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. (2020b). *Guia de Vigilância epidemiológica emergência de Saúde pública de importância nacional pela doença pelo coronavírus 2019*. <https://coronavirus.saude.gov.br/guia-de-vigilancia-epidemiologica-covid-19>

- Brasil. Ministério da Saúde. Relatório de Recomendação Empagliflozina para o tratamento de pacientes com Insuficiência Cardíaca com Fração de Ejeção Preservada e Levemente Reduzida (FEVE > 40%) e classes funcionais NYHA II e III N° 811. (n.d.). Retrieved July 17, 2024, from https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/relatorios/2023/20230428_relatorio-811-empagliflozina_insuficiencia_cardiaca_fep.pdf
- Brasil. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia. TelessaúdeRS (TelessaúdeRS-UFRGS). Quais as causas e como investigar elevação de vitamina B12 (cianocobalamina) na APS? Porto Alegre: TelessaúdeRS-UFRGS; 22 Dez 2021 [citado em “dia, mês abreviado e ano da citação”]. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/telessauders/perguntas/quais-as-causas-e-como-investigar-elevacao-de-vitamina-b12-cianocobalamina-na-aps/>
- Braz, S. (2021). Long-COVID: um desafio para a comunidade médica e para o SNS. *Acta Med Port*, 34(9), 567-568. <https://doi.org/10.20344/amp.16991>
- Brown, D. I., & Griendling, K. K. (2015). Regulation of signal transduction by reactive oxygen species in the cardiovascular system. *Circulation Research*, 116(3), 531–549. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.303584>
- Brunoni, A. R., Nitsche M. A., Bolognini N., Bikson M., Wagner T., Merabet L., Edwards D. J., Valero-Cabre A., Rotenberg A., Pascual-Leone A., Ferrucci R., Priori A., Boggio P. S., & Fregni F. (2012). Clinical research with transcranial direct current stimulation (tDCS): challenges and future directions. *Brain stimulation*, 5(3), 175-195. 10.1016/j.brs.2011.03.002
- Callai, E. M. M., Zin, L. E. F., Catarina, L. S., Ponzoni, D., Gonçalves, C. A. S., Vizuete, A. F. K., Cougo, M. C., Boff, J., Puricelli, E., Fernandes, E. K., da Silva Torres, I. L., & Quevedo, A. S. (2022). Evaluation of the immediate effects of a single transcranial direct current stimulation session on astrocyte activation, inflammatory response, and pain threshold in naïve rats. *Behavioural Brain Research*, 428, 113880. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2022.113880>
- Caparelli-Daquer, E. M., Zimmermann, T. J., Mooshagian, E., Parra, L. C., Rice, J. K., Datta, A., Bikson, M., & Wassermann, E. M. (2012). Um estudo piloto sobre os efeitos do tDCS de alta definição 4×1 na excitabilidade do córtex motor. Conferência Internacional Anual da IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engenharia em Medicina e Sociedade de Biologia. Conferência Internacional Anual, 2012, 735–738. <https://doi.org/10.1109/EMBC.2012.6346036>
- Carfi, A., Bernabei, R., & Landi, F. (2020). Persistent Symptoms in Patients After Acute COVID-19. *JAMA*, 324(6), 603-605. 10.1001/jama.2020.12603
- Carlos, A., Sousa, S., Felice, A., Issa, C., Ramos Nascimento, B., Filho, H., Luiz, M., Vieira, C., Da Diretriz, A., Marcondes-Braga, F., Ana, L., Moura, Z., Issa, V., Vieira, J., Rohde, L., Simões, M., Marinho, S., Alves, M., Rodrigues De Almeida, D., & Bocchi, E. (n.d.). (2021) Atualização. <https://doi.org/10.36660/abc.20210367>

- Casas, R., Castro-Barquero, S., Estruch, R., & Sacanella, E. (2018). Nutrition and Cardiovascular Health. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(12). <https://doi.org/10.3390/ijms19123988>
- Castelo-Branco, L., & Fregni, F. (2020). Home-Based Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS) to Prevent and Treat Symptoms Related to Stress: A Potential Tool to Remediate the Behavioral Consequences of the COVID-19 Isolation Measures?. *Frontiers in integrative neuroscience*, *14*, 1-5. [10.3389/fnint.2020.00046](https://doi.org/10.3389/fnint.2020.00046)
- Cederholm, T., Barazzoni, R., Austin, P., Ballmer, P., Biolo, G., Bischoff, S. C., Compher, C., Correia, I., Higashiguchi, T., Holst, M., Jensen, G. L., Malone, A., Muscaritoli, M., Nyulasi, I., Pirlich, M., Rothenberg, E., Schindler, K., Schneider, S. M., de van der Schueren, M. A., Sieber, C., ... Singer, P. (2017). Espen guidelines on definitions and terminology of clinical nutrition. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*, *36*(1), 49–64. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2016.09.004>
- Chan, A. W., Tetzlaff, J. M., Altman, D. G., Laupacis, A., Gøtzsche, P. C., Krleža-Jerić, K., Hróbjartsson, A., Mann, H., Dickersin, K., Berlin, J. A., Doré, C. J., Parulekar, W. R., Summerskill, W. S. M., Groves, T., Schulz, K. F., Sox, H. C., Rockhold, F. W., Rennie, D., & Moher, D. (2013). SPIRIT 2013 statement: defining standard protocol items for clinical trials. *Annals of Internal Medicine*, *158*(3), 200–207. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-158-3-201302050-00583>
- Cheungpasitporn, W., Thongprayoon, C., Bathini, T., Hansrivijit, P., Vaitla, P., Medaura, J., Vallabhajosyula, S., Chewcharat, A., Mao, M. A., & Erickson, S. B. (2020). Impact of admission serum magnesium levels on long-term mortality in hospitalized patients. *Hospital Practice*, *48*(2), 80-85. <https://doi.org/10.1080/21548331.2020.1724723>
- Chow, S. L., Maisel, A. S., Anand, I., Bozkurt, B., de Boer, R. A., Felker, G. M., Fonarow, G. C., Greenberg, B., Januzzi, J. L., Jr, Kiernan, M. S., Liu, P. P., Wang, T. J., Yancy, C. W., Zile, M. R., & American Heart Association Clinical Pharmacology Committee of the Council on Clinical Cardiology; Council on Basic Cardiovascular Sciences; Council on Cardiovascular Disease in the Young; Council on Cardiovascular and Stroke Nursing; Council on Cardiopulmonary, Critical Care, Perioperative and Resuscitation; Council on Epidemiology and Prevention; Council on Functional Genomics and Translational Biology; and Council on Quality of Care and Outcomes Research (2017). Role of Biomarkers for the Prevention, Assessment, and Management of Heart Failure: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*, *135*(22), e1054–e1091. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000490>
- Compher, C., Bingham, A. L., McCall, M., Patel, J., Rice, T. W., Braunschweig, C., & McKeever, L. (2022). Guidelines for the provision of nutrition support therapy in the adult critically ill patient: The American Society for Parenteral and Enteral Nutrition. *JPEN. Journal of parenteral and enteral nutrition*, *46*(1), 12–41. <https://doi.org/10.1002/jpen.2267>
- Curtain, J. P., Adamson, C., Docherty, K. F., Jhund, P. S., Desai, A. S., Lefkowitz, M. P., Rizkala, A. R., Rouleau, J. L., Swedberg, K., Zile, M. R., Solomon, S. D., Packer, M., & McMurray, J. J. V. (2023). Prevalent and Incident Anemia in PARADIGM-HF and the Effect of Sacubitril/Valsartan. *JACC. Heart failure*, *11*(7), 749–759. <https://doi.org/10.1016/j.jchf.2022.12.012>

- Dasilva, A. F., Mendonca, M. E., Zaghi, S., Lopes, M., Dossantos, M. F., Spierings, E. L., Fregni, F. (2012). tDCS-induced analgesia and electrical fields in pain-related neural networks in chronic migraine. *Headache*, 52(8), 1283–1295. <https://doi.org/10.1111/j.1526-4610.2012.02141.x>
- DaSilva, A. F., Volz, M. S., Bikson, M., & Fregni, F. (2011). Electrode positioning and montage in transcranial direct current stimulation. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (51), e2744.
- Datta, A., Bansal, V., Diaz, J., Patel, J., Reato, D., & Bikson, M. (2009). Gyri-precise head model of transcranial direct current stimulation: improved spatial focality using a ring electrode versus conventional rectangular pad. *Brain Stimulation*, 2(4), 201–207, 207.e1. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2009.03.005>
- De Smet, S., Razza, L. B., Pulpulos, M. M., De Raedt, R., Baeken, C., Brunoni, A. R., & Vanderhasselt, M. A. (2024). Stress priming transcranial direct current stimulation (tDCS) enhances updating of emotional content in working memory. *Brain stimulation*, 17(2), 434–443. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2024.03.021>
- Derner, R. B., Ohse, S., Villela, M., Carvalho, S. M. de, & Fett, R. (2006). Microalgas, produtos e aplicações. *Ciência Rural*, 36(6), 1959-1967. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782006000600004>
- E. Andrès, K. Serraj, J. Zhu, A.J.M. Vermorken, The pathophysiology of elevated vitamin B12 in clinical practice, *QJM: An International Journal of Medicine*, Volume 106, Issue 6, June 2013, Pages 505–515, <https://doi.org/10.1093/qjmed/hct051>
- Edwards, D., Cortes, M., Datta, A., Minhas, P., Wassermann, E. M., & Bikson, M. (2013). Physiological and modeling evidence for focal transcranial electrical brain stimulation in humans: a basis for high-definition tDCS. *NeuroImage*, 74, 266-275. [10.1016/j.neuroimage.2013.01.042](https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2013.01.042)
- Esse, R., Barroso, M., Tavares de Almeida, I., & Castro, R. (2019). The Contribution of Homocysteine Metabolism Disruption to Endothelial Dysfunction: State-of-the-Art. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(4). <https://doi.org/10.3390/ijms20040867>
- Fallah, A. A., Sarmast, E., Habibian Dehkordi, S., Engardeh, J., Mahmoodnia, L., Khaledifar, A., & Jafari, T. (2018). Effect of Chlorella supplementation on cardiovascular risk factors: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*, 37(6 Pt A), 1892–1901. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2017.09.019>
- Farag, M. R., Alagawany, M., Mahdy, E. A. A., El-Hady, E., Abou-Zeid, S. M., Mawed, S. A., Azzam, M. M., Crescenzo, G., & Abo-Elmaaty, A. M. A. (2023). Benefits of Chlorella vulgaris against cadmium chloride-induced hepatic and renal toxicities via restoring the cellular redox homeostasis and modulating Nrf2 and NF-κB pathways in male rats. *Biomedicine*, 11, 2414. <https://doi.org/10.3390/biomedicine11092414>
- Fernandes, S. L., Carvalho, R. R., Santos, L. G., Sá, F. M., Ruivo, C., Mendes, S. L., Martins, H., & Morais, J. A. (2019). Fisiopatologia e tratamento da insuficiência cardíaca com

fração de ejeção preservada: Estado da arte e perspectivas para o futuro [Pathophysiology and treatment of heart failure with preserved ejection fraction: State of the art and prospects for the future]. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 114(1), 120–129 <https://doi.org/10.36660/abc.20190111>

Fernández-Landázuri, Sara, Baeza-Trinidad, Ramón e Bernardo González, Iván. "Impacto de la intervención del laboratorio en la caracterización de la hipervitaminosis b12 en la práctica asistencial" *Avanços em Medicina Laboratorial / Avances en Medicina de Laboratorio*, 2024. <https://doi.org/10.1515/almed-2024-0010>

Frantz, S., Falcao-Pires, I., Balligand, J.-L., Bauersachs, J., Brutsaert, D., Ciccarelli, M., Dawson, D., de Windt, L.J., Giacca, M., Hamdani, N., Hilfiker-Kleiner, D., Hirsch, E., Leite-Moreira, A., Mayr, M., Thum, T., Tocchetti, C.G., van der Velden, J., Varricchi, G. and Heymans, S. (2018), The innate immune system in chronic cardiomyopathy: a European Society of Cardiology (ESC) scientific statement from the Working Group on Myocardial Function of the ESC. *Eur J Heart Fail*, 20: 445-459. <https://doi.org.ez15.periodicos.capes.gov.br/10.1002/ejhf.1138>

Gač, P., Czerwińska, K., Macek, P., Jaremków, A., Mazur, G., Pawlas, K., & Poręba, R. (2021). The importance of selenium and zinc deficiency in cardiovascular disorders. *Environmental toxicology and pharmacology*, 82, 103553. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2020.103553>

Gaggin, H. K., & Januzzi, J. L., Jr (2013). Biomarkers and diagnostics in heart failure. *Biochimica et biophysica acta*, 1832(12), 2442–2450. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2012.12.014>

Galvagni, L. E. ., Andrade, I. N. ., Brunheri, V., Callai, E. M. M., Catarina , L. S. ., Quevedo, D. M. de, Ponzoni, D., & Quevedo, A. S. . (2022). Effects of transcranial direct current stimulation (tDCS) on pro-inflammatory cytokines: a systematic review. *Research, Society and Development*, 11(13), e72111335013. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i13.35013>

Gomes, M. J., & Pagan, L. U. (2020). Heart Rate Control in Heart Failure. Controle da Frequência Cardíaca na Insuficiência Cardíaca. *Arquivos brasileiros de cardiologia*, 115(6), 1070–1071. <https://doi.org/10.36660/abc.20200572>

Global Burden of Disease – GBD. Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. (2020). *Lancet (London, England)*, 396(10258), 1223–1249. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30752-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30752-2)

Gombart, A. F., Pierre, A., & Maggini, S. (2020). A Review of Micronutrients and the Immune System-Working in Harmony to Reduce the Risk of Infection. *Nutrients*, 12(1). <https://doi.org/10.3390/nu12010236>

Green, R., Allen, L. H., Bjørke-Monsen, A. L., Brito, A., Guéant, J. L., Miller, J. W., Molloy, A. M., Nexo, E., Stabler, S., Toh, B. H., Ueland, P. M., & Yajnik, C. (2017). Vitamin B₁₂ deficiency. *Nature reviews. Disease primers*, 3, 17040. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.40>

- Gu Z, Chen W, Lu Q, Dai J, Hu S, Xu K, Geng Y, Zhu Y, Xu B, Dai W, Shen Y. Anodal high-definition transcranial direct current stimulation reduces heart rate and modulates heart-rate variability in healthy young people: A randomized cross-controlled trial. *Front Cardiovasc Med.* 2022 Dec 2;9:1070157. doi: 10.3389/fcvm.2022.1070157. PMID: 36531710; PMCID: PMC9755739.
- Güntürk, İ., Ozmen, R., Ozocak, O., Güntürk, E. E., Dagli, F., & Yazici, C.. (2024). O Índice de Imuno Inflamação Sistêmica Prevê Mortalidade Hospitalar em Pacientes Submetidos à Cirurgia Cardíaca com Circulação Extracorpórea. *Arquivos Brasileiros De Cardiologia*, 121(4), e20230245. <https://doi.org/10.36660/abc.20230245>
- Guo, T., Fang, J., Tong, Z. Y., He, S., & Luo, Y. (2020). Transcranial Direct Current Stimulation Ameliorates Cognitive Impairment via Modulating Oxidative Stress, Inflammation, and Autophagy in a Rat Model of Vascular Dementia. *Frontiers in Neuroscience*, 14, 28. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00028>
- Haidari, F., Homayouni, F., Helli, B., Haghighizadeh, M. H., & Farahmandpour, F. (2018). Effect of chlorella supplementation on systematic symptoms and serum levels of prostaglandins, inflammatory and oxidative markers in women with primary dysmenorrhea. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*, 229, 185–189. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2018.08.578>
- Hantson, P. (2019). Mechanisms of toxic cardiomyopathy. *Clinical toxicology (Philadelphia, Pa.)*, 57(1), 1–9. <https://doi.org/10.1080/15563650.2018.1497172>
- Harris, K. M., Testani, J. M., & Burg, M. M. (2020). Extending Behavioral Medicine to Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. In *Psychosomatic medicine*, 82(3), 345–346. <https://doi.org/10.1097/PSY.0000000000000783>
- Heidenreich, P. A., Bozkurt, B., Aguilar, D., Allen, L. A., Byun, J. J., Colvin, M. M., Deswal, A., Drazner, M. H., Dunlay, S. M., Evers, L. R., Fang, J. C., Fedson, S. E., Fonarow, G. C., Hayek, S. S., Hernandez, A. F., Khazanie, P., Kittleson, M. M., Lee, C. S., Link, M. S., Milano, C. A., Nwacheta, L. C., Sandhu, A. T., Stevenson, L. W., Vardeny, O., Vest, A. R., & Yancy, C. W. (2022). 2022 AHA/ACC/HFSA guideline for the management of heart failure: A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*, 145(e895–e1032). <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000001063>
- Hernandez-Landero, F., Sanchez-Garcia, E., Gomez-Crisostomo, N., Contreras-Paredes, A., Eduardo, M. A., & de la Cruz-Hernandez, E. (2022). Anthropometric, biochemical, and haematological indicators associated with hyperhomocysteinemia and their relation to global DNA methylation in a young adult population. *Epigenetics*, 17(10), 1269–1280. <https://doi.org/10.1080/15592294.2021.2013420>
- Herrera-Martínez, A. D., Muñoz Jiménez, C., López Aguilera, J., Crespín, M. C., Manzano García, G., Gálvez Moreno, M. Á., Calañas Continente, A., & Molina Puerta, M. J. (2023). Mediterranean Diet, Vitamin D, and Hypercaloric, Hyperproteic Oral Supplements for Treating Sarcopenia in Patients with Heart Failure-A Randomized Clinical Trial. *Nutrients*, 16(1), 110. <https://doi.org/10.3390/nu16010110>

- Herwald, H., & Egesten, A. (2021). C-Reactive Protein: More than a Biomarker. In *Journal of innate immunity* (Vol. 13, Issue 5, pp. 257–258). <https://doi.org/10.1159/000519091>
- Hoseini, S. G., Heshmat-Ghahdarjani, K., Khosrawi, S., Garakyaraghi, M., Shafie, D., Mansourian, M., Roohafza, H., Azizi, E., & Sadeghi, M. (2022). Melatonin supplementation improves N-terminal pro-B-type natriuretic peptide levels and quality of life in patients with heart failure with reduced ejection fraction: Results from MeHR trial, a randomized clinical trial. *Clinical cardiology*, 45(4), 417–426. <https://doi.org/10.1002/clc.23796>
- Hossain, K. S., Amarasena, S., & Mayengbam, S. (2022). B Vitamins and Their Roles in Gut Health. *Microorganisms*, 10(6), 1168. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10061168>
- Huang, C., Huang, L., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Gu, X., Kang, L., Guo, L., Liu, M., Zhou, X., Luo, J., Huang, Z., Tu, S., Zhao, Y., Chen, L., Xu, D., Li, Y., Li, C., Peng, L., Li, Y., ..., Cao, B. (2021). 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: a cohort study. *Lancet (London, England)*, 397(10270), 220–232. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32656-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32656-8)
- Huang, W., Resch, S., Oliveira, R. K., Cockrill, B. A., Systrom, D. M., & Waxman, A. B. (2017). Invasive cardiopulmonary exercise testing in the evaluation of unexplained dyspnea: Insights from a multidisciplinary dyspnea center. *European Journal of Preventive Cardiology*, 24(11), 1190–1199. <https://doi.org/10.1177/2047487317709605>
- Hurley, R., & Machado, L. (em inglês) (2017). Usando o pincamento de ETCC para melhorar a função cerebral: a metaplasticidade pode fornecer a chave para impulsionar os resultados? *Neurociência e biobehavioral comentários*, , -83, 155–159. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.09.029>
- Hysing, M., Strand, T. A., Chandyo, R. K., Ulak, M., Ranjitkar, S., Schwinger, C., Shrestha, M., & Kvestad, I. (2022). The effect of vitamin B12-supplementation on actigraphy measured sleep pattern; a randomized control trial. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*, 41(2), 307–312. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2021.11.040>
- Jebari-Benslaiman, S., Galicia-García, U., Larrea-Sebal, A., Olaetxea, J. R., Alloza, I., Vandenbroeck, K., Benito-Vicente, A., & Martín, C. (2022). Pathophysiology of Atherosclerosis. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 23, Issue 6). <https://doi.org/10.3390/ijms23063346>
- Izar, M. C. de O., Lottenberg, A. M., Giraldez, V. Z. R., Santos Filho, R. D. dos ., Machado, R. M., Bertolami, A., Assad, M. H. V., Saraiva, J. F. K., Faludi, A. A., Moreira, A. S. B., Geloneze, B., Magnoni, C. D., Scherr, C., Amaral, C. K., Araújo, D. B. de ., Cintra, D. E. C., Nakandakare, E. R., Fonseca, F. A. H., Mota, I. C. P., ... Machado, V. A.. (2021). Posicionamento sobre o Consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular – 2021. *Arquivos Brasileiros De Cardiologia*, 116(1), 160–212. <https://doi.org/10.36660/abc.20201340>
- Jiang, Q., Wang, L., Si, X., Bian, Y., Zhang, W., Cui, H., Gui, H., Zhang, Y., Li, B., & Tan, D. (ano). Pterostilbene antagonizes homocysteine-induced oxidative stress, apoptosis and lipid deposition in vascular endothelial cells. / *Food Science and Human Wellness* 12 (2023) 1683-1692. <http://doi.org/10.1016/j.fshw.2023.02.029>

- Jordán, A. J., Esteban, A., García, M., Monmeneu, J. V., Espinosa, D., Reyes, F., Luján, J., Climent, V., Marín, F., & García de Burgos, F. (2003). Valor pronóstico de los niveles séricos del factor de necrosis tumoral alfa en pacientes con insuficiencia cardíaca [Prognostic value of serum levels of tumor necrosis factor-alpha in patients with heart failure]. *Revista española de cardiología*, 56(2), 160–167. [https://doi.org/10.1016/s0300-8932\(03\)76840-7](https://doi.org/10.1016/s0300-8932(03)76840-7)
- Kaegi-Braun, N., Tribolet, P., Baumgartner, A., Fehr, R., Baechli, V., Geiser, M., Deiss, M., Gomes, F., Kutz, A., Hoess, C., Pavlicek, V., Schmid, S., Bilz, S., Sigrist, S., Brändle, M., Benz, C., Henzen, C., Thomann, R., Rutishauser, J., Aujesky, D., ... Schuetz, P. (2021). Value of handgrip strength to predict clinical outcomes and therapeutic response in malnourished medical inpatients: Secondary analysis of a randomized controlled trial. *The American journal of clinical nutrition*, 114(2), 731–740. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqab042>
- Kaegi-Braun, N., Faessli, M., Kilchoer, F., Dragusha, S., Tribolet, P., Gomes, F., Bretscher, C., Germann, S., Deutz, N. E., Stanga, Z., Mueller, B., Schuetz, P. (2021). Nutritional trials using high protein strategies and long duration of support show strongest clinical effects on mortality. Results of an updated systematic review and meta-analysis. *Clinical Nutrition ESPEN*, 45(2021), 45–54. <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2021.08.003>
- Kamiya, K., Sato, Y., Takahashi, T., Tsuchihashi-Makaya, M., Kotooka, N., Ikegame, T., Takura, T., Yamamoto, T., Nagayama, M., Goto, Y., Makita, S., & Isobe, M. (2020). Multidisciplinary cardiac rehabilitation and long-term prognosis in patients with heart failure. *Circulation: Heart Failure*, 13, e006798. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.119.006798>
- Karakanas, A., Michailidis, T., Gogos, C., Patoulis, D., Nazou, G., & Schizas, N. (2022). Capítulo de Perspectiva: Estenose Aórtica Moderada e Insuficiencia Cardíaca com Fração de Ejeção Reduzida; Substituição precoce ou tratamento conservador? *IntechOpen*. DOI: 10.5772/intechopen.103923
- Katz, J. N., Minder, M., Olenchock, B., Price, S., Goldfarb, M., Washam, J. B., Barnett, C. F., Newby, L. K., & van Diepen, S. (2016). The Genesis, Maturation, and Future of Critical Care Cardiology. *Journal of the American College of Cardiology*, 68(1), 67–79. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.04.036>
- Kennedy, D. O. (2016). B Vitamins and the Brain: Mechanisms, Dose and Efficacy--A Review. *Nutrients*, 8(2), 68. <https://doi.org/10.3390/nu8020068>
- Kidwell, M., & Ellenbroek, B. A. (2018). Heart and soul: heart rate variability and major depression. *Behavioural Pharmacology*, 29(2 and 3-Spec Issue), 152–164. <https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000387>
- Kieliszek, M., & Bano, I. (2022). Selenium as an important factor in various disease states - A review. *EXCLI Journal*, 21, 948-966. <https://dx.doi.org/10.17179/excli2022-5137>
- Knaus, W. A., Draper, E. A., Wagner, D. P., & Zimmerman, J. E. (1985). APACHE II: a severity of disease classification system. *Critical Care Medicine*, 13(10), 818–829.

- Knotkova, H., Riggs, A., Berisha, D., Borges, H., Bernstein, H., Patel, V., Truong, D. Q., Unal, G., Arce, D., Datta, A., & Bikson, M. (2019). Automatic M1-SO Montage Headgear for Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS) Suitable for Home and High-Throughput In-Clinic Applications. *Neuromodulation: Journal of the International Neuromodulation Society*, 22(8), 904–910. <https://doi.org/10.1111/ner.12786>
- Kosiborod, M. (em inglês) N., Petrie, M. C., Borlaug, B. (em inglês) A., Mordomo, J., Davies, M. J., Hovingh, G. K., Kitzman, D. W., Møller, D. V., Treppendahl, M. B., Verma, S., Jensen, T. J., Liisberg, K., Lindegaard, M. L., Abhayaratna, W., Ahmed, F. Z., Ben-Gal, T., Chopra, V., Ezekowitz, J. A., Fu, M., Ito, H., ... Comitês e Investigadores de Ensaio DM STEP-HFpEF (2024). Semaglutide em pacientes com insuficiência cardíaca relacionada à obesidade e diabetes tipo 2. *O Jornal da Medicina da Nova Inglaterra*, , - 390 em (Reuters)(15), 1394–1407. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2313917>
- Kuo, H. I., Bikson, M., Datta, A., Minhas, P., Paulus, W., Kuo, M. F., & Nitsche, M. A. (2013). Comparing cortical plasticity induced by conventional and high-definition 4 × 1 ring tDCS: a neurophysiological study. *Brain Stimulation*, 6(4), 644–648. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2012.09.010>
- Kwak, J. H., Baek, S. H., Woo, Y., Han, J. K., Kim, B. G., Kim, O. Y., & Lee, J. H. (2012). Beneficial immunostimulatory effect of short-term Chlorella supplementation: enhancement of natural killer cell activity and early inflammatory response (randomized, double-blinded, placebo-controlled trial). *Nutrition Journal*, 11(1), p. 1-8. 10.1186/1475-2891-11-53
- Langan, R. C., & Goodbred, A. J. (2017). Vitamin B12 Deficiency: Recognition and Management. *American family physician*, 96(6), 384–389.
- Lindmark, E., Diderholm, E., Wallentin, L., & Siegbahn, A. (2001). Relationship between interleukin 6 and mortality in patients with unstable coronary artery disease: effects of an early invasive or noninvasive strategy. *JAMA*, 286(17), 2107–2113. <https://doi.org/10.1001/jama.286.17.2107>
- Liu, W., Zhang, X., Wu, Z., Huang, K., Yang, C., & Yang, L. (2022). Brain-heart communication in health and diseases. *Brain research bulletin*, 183, 27–37. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2022.02.012>
- Liu, Z., Zhu, G., Zhang, Y., Zhang, P., Zang, W., & Shen, Z. (2023). Comprehensive comparative analysis of the prognostic impact of systemic inflammation biomarkers for patients underwent cardiac surgery. *Frontiers in Immunology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1190380>
- Longo, M. A. T., Martelli, A., & Zimmermann, A. (2011). Hipertensão arterial sistêmica: aspectos clínicos e análise farmacológica no tratamento dos pacientes de um setor de psicogeriatría do Instituto Bairral de Psiquiatria, no município de Itapira, SP. *Revista Brasileira De Geriatria E Gerontologia*, 14(2), 271–284. <https://doi.org/10.1590/S1809-98232011000200008>
- Machado, A. R., Graça, C. S., de Assis, L. M., & de Souza-Soares, L. A. (2016). Uma abordagem sobre caracterização e avaliação do potencial antioxidante de extratos fenólicos de microalga Spirulina sp. LEB-18 e *Chlorella pyrenoidosa* [An approach on

characteristics and potential assessment of antioxidant extracts from phenolic microalgae *Spirulina* sp. LEB-18 and *Chlorella pyrenoidosa*]. *Revista de Ciências Agrárias*, 44(1), 1-10. <https://doi.org/10.19084/RCA16011>

- Manna, C., Napoli, D., Cacciapuoti, G., Porcelli, M., & Zappia, V. (2009). Olive oil phenolic compounds inhibit homocysteine-induced endothelial cell adhesion regardless of their different antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(8), 3478-3482. <https://doi.org/10.1021/jf8037659>
- Mao, H., Lyu, Y., Li, Y., Gan, L., Ni, J., Liu, L., & Xiao, Z. (2022). Clinical study on swallowing function of brainstem stroke by tDCS. *Neurological Sciences: Official Journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology*, 43(1), 477-484. <https://doi.org/10.1007/s10072-021-05247-6>
- Makovac E, Thayer JF, Ottaviani C. A meta-analysis of non-invasive brain stimulation and autonomic functioning: Implications for brain-heart pathways to cardiovascular disease. *Neurosci Biobehav Rev.* 2017 Mar;74(Pt B):330-341. doi: 10.1016/j.neubiorev.2016.05.001. Epub 2016 May 13. PMID: 27185286.
- Marchione, D. M. L., Slater, B., & Fisberg, R. M. (2004). Aplicação das Dietary Reference Intakes na avaliação da ingestão de nutrientes para indivíduos. *Revista de Nutrição*, 17(2), 207-216. <https://doi.org/10.1590/S1415-52732004000200007>
- Marchione, D. M. L., Verly Junior, E., Cesar, C. L. G., & Fisberg, R. M.. (2011). Avaliação da adequação da ingestão de nutrientes na prática clínica. *Revista de Nutrição*, 24(6), 825-832. <https://doi.org/10.1590/S1415-52732011000600003>
- Marcondes-Braga, F. G., Moura, L. A. Z., Issa, V. S., Vieira, J. L., Rohde, L. E., Simões, M. V., *et al.* (2021). Atualização de tópicos emergentes da diretriz de insuficiência cardíaca – 2021. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 116(6), 1174-1212. <https://doi.org/10.36660/abc.20210367>
- Masina, F., Arcara, G., Galletti, E., Cinque, I., Gamberini, L., & Mapelli, D. (2021). Neurophysiological and behavioural effects of conventional and high definition tDCS. *Scientific Reports*, 11(1), 7659. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-87371-z>
- McCaddon, A., & Regland, B. (2021). COVID-19: A methyl-group assault?. *Medical hypotheses*, 149, 110543. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2021.110543>
- McClave, S. A., Taylor, B. E., Martindale, R. G., Warren, M. M., Johnson, D. R., Braunschweig, C., McCarthy, M. S., Davanos, E., Rice, T. W., Cresci, G. A., Gervasio, J. M., Sacks, G. S., Roberts, P. R., Compher, C., Society of Critical Care Medicine, & American Society for parenteral and Enteral Nutrition (2016). Guidelines for the Provision and Assessment of Nutrition Support Therapy in the Adult Critically Ill Patient: Society of Critical Care Medicine (SCCM) and American Society for Parenteral and Enteral Nutrition (A.S.P.E.N.). *JPEN. Journal of parenteral and enteral nutrition*, 40(2), 159-211. <https://doi.org/10.1177/0148607115621863>
- McDonagh, T. A., Metra, M., Adamo, M., Gardner, R. S., Baumbach, A., Böhm, M., Burri, H., Butler, J., Jelena Čelutkienė, Ovidiu Chioncel, John G.F. Cleland, Crespo-Leiro, M. G., Farmakis, D., Gilard, M., Heymans, S., Hoes, A. W., Jaarsma, T., Jankowska, E. A., Mitja

Lainscak, & Carolyn S.P. Lam. (2023). 2023 Focused Update of the 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *European Heart Journal*, 44(37). <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehad195>

McDonagh, T. A., Metra, M., Adamo, M., Gardner, R. S., Baumbach, A., Böhm, M., Burri, H., Butler, J., Čelutkienė, J., Chioncel, O., Cleland, J. G. F., Coats, A. J. S., Crespo-Leiro, M. G., Farmakis, D., Gilard, M., Heymans, S., Hoes, A. W., Jaarsma, T., Jankowska, E. A., ... ESC Scientific Document Group (2022). 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: Developed by the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). With the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *European journal of heart failure*, 24(1), 4–131. <https://doi.org/10.1002/ejhf.2333>

McDonagh, T. A., Metra, M., Adamo, M., Gardner, R. S., Baumbach, A., Böhm, M., Burri, H., Butler, J., Čelutkienė, J., Chioncel, O., Cleland, J. G. F., Coats, A. J. S., Crespo-Leiro, M. G., Farmakis, D., Gilard, M., Heymans, S., ... (2021). 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *European Heart Journal*, 42(36), 3599–3726. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehab368>

Mensah, G. A., Roth, G. A., & Fuster, V. (2019). The Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors: 2020 and Beyond. In *Journal of the American College of Cardiology* (Vol. 74, Issue 20, pp. 2529–2532). <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.10.009>

Merchant, R. E., Phillips, T. W., & Udani, J. (2015). Nutritional Supplementation with *Chlorella pyrenoidosa* Lowers Serum Methylmalonic Acid in Vegans and Vegetarians with a Suspected Vitamin B₁₂ Deficiency. *Journal of medicinal food*, 18(12), 1357–1362. <https://doi.org/10.1089/jmf.2015.0056>

Metnitz, P. G. H., Metnitz, B., Moreno, R. P., Bauer, P., Del Sorbo, L., Hoermann, C., ... Ranieri, V. M. (2009). Epidemiology of mechanical ventilation: analysis of the SAPS 3 database. *Intensive Care Medicine*, 35(5), 816–825. <https://doi.org/10.1007/s00134-009-1449-9>

Minhas, P., Bansal, V., Patel, J., Ho, J. S., Diaz, J., Datta, A., & Bikson, M. (2010). Electrodes for high-definition transcutaneous DC stimulation for applications in drug delivery and electrotherapy, including tDCS. *Journal of Neuroscience Methods*, 190(2), 188–197. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2010.05.007>

Moffa, A. H., Brunoni, A. R., Nikolin, S., & Loo, C. K. (2018). Transcranial Direct Current Stimulation in Psychiatric Disorders: A Comprehensive Review. *The Psychiatric clinics of North America*, 41(3), 447–463. <https://doi.org/10.1016/j.psc.2018.05.002>

Moisset, X., Lanteri-Minet, M., & Fontaine, D. (2020). Neurostimulation methods in the treatment of chronic pain. *Journal of neural transmission (Vienna, Austria : 1996)*, 127(4), 673–686. <https://doi.org/10.1007/s00702-019-02092-y>

Mohan, A., Kumar, R., Kumar, V., Yadav, M. Homocysteine, Vitamin B12 and Folate Level: Possible Risk Factor in the Progression of Chronic Heart and Kidney Disorders. 2023. *Curr Cardiol Rev.* 2023;19(4):e090223213539. doi: 10.2174/1573403X19666230209111854.

- Moore, F. A., Phillips, S. M., McClain, C. J., Patel, J. J., & Martindale, R. G. (2017). Nutrition Support for Persistent Inflammation, Immunosuppression, and Catabolism Syndrome. *Nutrition in clinical practice : official publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition*, 32(1_suppl), 121S–127S. <https://doi.org/10.1177/0884533616687502>
- Morya, E., Monte-Silva, K., Bikson, M., Esmaeilpour, Z., Biazoli Jr, C. E., Fonseca, A., Bocci, T., Farzan, F., Chatterjee, R., Hausdorff, J. M., Machado, D. G. S., Brunoni, A. R., Mezger, E., Moscaleski, L. A., Pegado, R., Sato, J. R., Caetano, M. S., Sá, K. S., Tanaka, ... Okano, A. H. (2019). *J NeuroEngineering Rehabil*, 16, 141-170. <https://doi.org/10.1186/s12984-019-0581-1>
- Müller, D., Habel, U., Brodtkin, E. S., Clemens, B., & Weidler, C. (2023). HD-tDCS induced changes in resting-state functional connectivity: Insights from EF modeling. *Brain Stimulation*, 16(2023), 1722-1732. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2023.11.012>
- Murphy SP, Ibrahim NE, Januzzi JL. Heart Failure With Reduced Ejection Fraction: A Review. *JAMA*. 2020;324(5):488–504. doi:10.1001/jama.2020.10262
- Nascimento BR, Brant LCC, Naback ADN, Veloso GA, Polanczyk CA, Ribeiro ALP, Malta DC, Ferreira AVL, Oliveira GMM. Burden of Cardiovascular Diseases Attributable to Risk Factors in Portuguese-Speaking Countries: Data from the "Global Burden of Disease 2019" Study. *Arq Bras Cardiol*. 2022 Jun 10;118(6):1028-1048. English, Portuguese. doi: 10.36660/abc.20210680. PMID: 35703642; PMCID: PMC9345142.
- Nathaniel R Smilowitz, Darcy Banco, Stuart D Katz, Joshua A Beckman, Jeffery S Berger, Association between heart failure and perioperative outcomes in patients undergoing non-cardiac surgery, *European Heart Journal - Quality of Care and Clinical Outcomes*, Volume 7, Issue 1, January 2021, Pages 68–75, <https://doi.org/10.1093/ehjqcco/qcz066>
- Nitsche, M. A., & Paulus, W. (2020). Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. *The Journal of Physiology*, 527(3), 633-639. [10.1111/j.1469-7793.2000.t01-1-00633.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2000.t01-1-00633.x)
- Nitsche, M. A., Cohen, L. G., Wassermann, E. M., Priori, A., Lang, N., Antal, A., ... Pascual-Leone, A. (2008). Transcranial direct current stimulation: State of the art 2008. *Brain Stimulation*, 1(3), 206–223. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2008.06.004>
- Nitsche, M. A., Fricke, K., Henschke, U., Schlitterlau, A., Liebetanz, D., Lang, N., ... Paulus, W. (2003). Pharmacological modulation of cortical excitability shifts induced by transcranial direct current stimulation in humans. *The Journal of Physiology*, 553(Pt 1), 293–301. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.049916>
- Nogueira, T. L., da Silva, S. D. A., da Silva, L. H., Leite, M. V. S., da Rocha, J. F. A., & Andreza, R. S. (2023). Pós covid-19: as sequelas deixadas pelo Sars-Cov-2 e o impacto na vida das pessoas acometidas [Post covid-19: the sequels left by Sars-Cov-2 and the impact on the life of those affected]. Faculdade Aggeu Magalhães - FAMA. <https://doi.org/10.46919/archv2n3-021>
- O'Leary, F.; Samã, S. Vitamina B₁₂ na Saúde e na Doença. *Nutrientes* 2010, 2, 299-316. <https://doi.org/10.3390/nu2030299>

- Organização Mundial da Saúde - OMS (2020). *Clinical Management Of covid-19 (Interim Guidance)*. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/332196/WHO-2019-nCoV-clinical-2020.5-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ostrowski, J., Svaldi, J., & Schroeder, P. A. (2022). More focal, less heterogeneous? Multi-level meta-analysis of cathodal high-definition transcranial direct current stimulation effects on language and cognition. *Journal of Neural Transmission*, 129(7), 861–878. <https://doi.org/10.1007/s00702-022-02507-3>
- Padovanni, R. M., Amaya-Farfán, J., Colugnati, F. A. B., & Domene, S. M. A. (2006). Dietary reference intakes: aplicabilidade das tabelas em estudos nutricionais. *Rev. Nutr., Campinas*, 19(6), 741-760. <https://doi.org/10.1590/S1415-52732006000600010>
- Paniz, C., Grotto, D., Schmitt, G. C., Valentini, J., Schott, K. L., Pomblum, V. J., & Garcia, S. C. (2005). Fisiopatologia da deficiência de vitamina B12 e seu diagnóstico laboratorial. *Medicina Laboratorial*, 41(5), 323-334. <https://doi.org/10.1590/S1676-24442005000500007>
- Pereira, G. A. R., & Beck-da-Silva, L. (2021). Deficiência de ferro na insuficiência cardíaca com fração de ejeção reduzida: Fisiopatologia, diagnóstico e tratamento. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 118(3), 646–654. <https://doi.org/10.36660/abc.20201257>
- Perez, A. (em inglês). L., Grodin, J. L., Chaikijurajai, T., Wu, Y., Hernandez, A. F., Butler, J., Metra, M., Felker, G. M., Voores, A. A., McMurray, J. J., Armstrong, P. (em inglês) W., O'Connor, C., Starling, R. C., & Tang, W. H. A. W. (Reuters) - O que se aloja (2021) Interleucina-6 e Resultados em Insuficiência Cardíaca Aguda: Um Substudo ASCEND-HF. *Jornal de insuficiência cardíaca*, , -27(6), 670–676. <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2021.01.006>
- Pickering, M. E. (2021). Cross-Talks between the Cardiovascular Disease-Sarcopenia-Osteoporosis Triad and Magnesium in Humans. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(16). <https://doi.org/10.3390/ijms22169102>
- Plenz, G., Song, Z. F., Tjan, T. D., Koenig, C., Baba, H. A., Erren, M., Flesch, M., Wichter, T., Scheld, H. H., & Deng, M. C. (2001). Activation of the cardiac interleukin-6 system in advanced heart failure. *European journal of heart failure*, 3(4), 415–421. [https://doi.org/10.1016/s1388-9842\(01\)00137-4](https://doi.org/10.1016/s1388-9842(01)00137-4)
- Précoma, D. B., Oliveira, G. M. M., Simão, A. F., Dutra, O. P., Coelho, O. R., Izar, M. C. O., et al. (2019). Atualização da Diretriz de Prevenção Cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia – 2019. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 113(4), 787-891. <https://doi.org/10.5935/abc.20190204>
- Queiroz, J. S., Marín Blasco, I., Gagliano, H., Daviu, N., Gómez Román, A., Belda, X., Carrasco, J., Rochac, M. C., Palermo Neto, J., & Armario, A. (2016). *Chlorella vulgaris* reduces the impact of stress on hypothalamic–pituitary–adrenal axis and brain c-fos expression. *Psychoneuroendocrinology*, 63, 72-81. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2015.12.002>

- R Core Team (2024). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rahman, S., & Baumgartner, M. (2019). B Vitamins: Small molecules, big effects. *Journal of inherited metabolic disease*, 42(4), 579–580. <https://doi.org/10.1002/jimd.12127>
- Ramalho, S. H. R., & Shah, A. M. (2021). Lung function and cardiovascular disease: A link. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 31(2), 93–98. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tcm.2019.12.009>
- Raman, B., Bluemke, D. A., Lüscher, T. F., & Neubauer, S. (2022). Long COVID: post-acute sequelae of COVID-19 with a cardiovascular focus. *European Heart Journal*, 43(11), 1157–1172. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehac031>
- Rasheed, R., Saadaoui, I., Bounnit, T., Cherif, M., Al Ghazal, G., & Al Jabri, H. (2020). Sustainable food production and nutraceutical applications from Qatar desert *Chlorella* sp. (Chlorophyceae). *Animals*, 10(8), 1413. <https://doi.org/10.3390/ani10081413>
- Reckow, J., Rahman-Filipiak, A., Garcia, S., Schlaefflin, S., Calhoun, O., Da Silva, A. F., Bikson, M., & Hampstead, B. M. (2018). Tolerability and blinding of 4x1 high-definition transcranial direct current stimulation (HD-tDCS) at two and three milliamps. *Brain Stimulation*, 11(5), 991–997. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2018.04.022>
- Roth, G. A., Mensah, G. A., Johnson, C. O., Addolorato, G., Ammirati, E., Baddour, L. M., Barengo, N. C., Beaton, A. Z., Benjamin, E. J., Benziger, C. P., Bonny, A., Brauer, M., Brodmann, M., Cahill, T. J., Carapetis, J., Catapano, A. L., Chugh, S. S., Cooper, L. T., Coresh, J., Criqui, M., ... GBD-NHLBI-JACC Global Burden of Cardiovascular Diseases Writing Group (2020). Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990–2019: Update From the GBD 2019 Study. *Journal of the American College of Cardiology*, 76(25), 2982–3021. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.11.010>
- Salehinejad, M. A., Ghanavati, E., Glinski, B., Hallajian, A. H., & Azarkolah, A. (2022). A systematic review of randomized controlled trials on efficacy and safety of transcranial direct current stimulation in major neurodevelopmental disorders: ADHD, autism, and dyslexia. *Brain and behavior*, 12(9), e2724. <https://doi.org/10.1002/brb3.2724>
- Sangali, T. D., Souza, G. C., Ribeiro, É. C. T., & Perry, I. D. S. (2023). Sarcopenia: Inflammatory and Humoral Markers in Older Heart Failure Patients. Sarcopenia: Marcadores Inflamatórios e Humorais em Pacientes Idosos com Insuficiência Cardíaca. *Arquivos brasileiros de cardiologia*, 120(7), e20220369. <https://doi.org/10.36660/abc.20220369>
- Sattar, Y., Ullah, W., Rauf, H., Virik, H. U. H., Yadav, S., Chowdhury, M., Connerney, M., Mamtni, S., Pahuja, M., Patel, R. D., Mir, T., Almas, T., Pacha, H. M., & Alraies, M. C. (2020). Covid-19 Cardiovascular Epidemiology, Cellular Pathogenesis, Clinical Manifestations and Management. *IJC Heart & Vasculature*, 29, 10.1016/j.ijcha.2020.100589
- Schmaußer M, Hoffmann S, Raab M, Laborde S. Os efeitos da estimulação cerebral não invasiva sobre a frequência cardíaca e a variabilidade da frequência cardíaca: uma revisão

sistemática e metanálise. *J Neurosci Res.* 2022 Set; 100(9):1664-1694. DOI: 10.1002/jnr.25062. Epub 2022 17 de maio. PMID: 35582757

Schomburg, L. Deficiência de selênio devido à dieta, gravidez, doença grave ou COVID-19 - um gatilho evitável para doenças autoimunes. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 8532. <https://doi.org/10.3390/ijms2216853>

Schuetz, P., Seres, D., Lobo, D. N., Gomes, F., Kaegi-Braun, N., & Stanga, Z. (2021). Management of disease-related malnutrition for patients being treated in hospital. *Lancet (London, England)*, 398(10314), 1927–1938. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)01451-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)01451-3)

Scola, L., Giarratana, R. M., Marinello, V., Cancila, V., Pisano, C., Ruvolo, G., Frati, G., Lio, D., & Balistreri, C. R. (2021). Polymorphisms of Pro-Inflammatory IL-6 and IL-1 β Cytokines in Ascending Aortic Aneurysms as Genetic Modifiers and Predictive and Prognostic Biomarkers. *Biomolecules*, 11(7), 943. <https://doi.org/10.3390/biom11070943>

Scolari, F. L., Tobar Leitão, S. A., Faganello, L. S., Goldraich, L. A., & Clausell, N. (2018). Insuficiência cardíaca - Fisiopatologia atual e implicações terapêuticas. *Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo*, 28(1), 33–41. <http://dx.doi.org/10.29381/0103-8559/2018280133-41>

Sessler, C. N., Gosnell, M. S., Grap, M. J., Brophy, G. M., O'Neal, P. V, Keane, K. A., ... Elswick, R. K. (2002). The Richmond Agitation-Sedation Scale: validity and reliability in adult intensive care unit patients. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 166(10), 1338–1344. <https://doi.org/10.1164/rccm.2107138>

Severo, I. A., Nascimento, T. C. do, & Fagundes, M. B. (Eds.). (2021). Microalgas: potenciais aplicações e desafios. *Mérida Publishers*. <https://doi.org/10.4322/mp.978-65-994457-8-1>

Siegel, Sidney; CASTELLAN JR, N. John. Estatística não-paramétrica para ciências do comportamento. Artmed Editora, 2006.

Silva, T. Q. A. C., & Coelho-Filho, O. R. (2018). Atividade simpática cardíaca e teoria neuro-humoral na insuficiência cardíaca com fração de ejeção reduzida: Já aprendemos o suficiente? [Cardiac sympathetic activity and the neuro-humoral theory on heart failure with reduced ejection fraction: Have we learned enough?]. *Sociedade Brasileira de Cardiologia*. <https://doi.org/10.5935/abc.20180148>

Singer, P., Blaser, A. R., Berger, M. M., Alhazzani, W., Calder, P. C., Casaer, M. P., Hiesmayr, M., Mayer, K., Montejo, J. C., Pichard, C., Preiser, J.-C., van Zanten, A. R. H., Oczkowski, S., Szczeklik, W., & Bischoff, S. C. (2019). Espen guideline on clinical nutrition in the intensive care unit. *Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)*, 38(1), 48–79. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.08.037>

Singer P. (2019). Preserving the quality of life: nutrition in the ICU. *Critical care (London, England)*, 23(Suppl 1), 139. <https://doi.org/10.1186/s13054-019-2415-8>

Shimada, B. K., Alfulaij, N., & Seale, L. A. (2021). The Impact of Selenium Deficiency on Cardiovascular Function. *International journal of molecular sciences*, 22(19), 10713. <https://doi.org/10.3390/ijms221910713>

- Sousa, A. A., de Azevedo, E., de Lima, E. E., & da Silva, A. P. F. (2012). Alimentos orgânicos e saúde humana: estudo sobre as controvérsias. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 31(6), 513-517. Retrieved from http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1020-49892012000600010
- Souza, G. T., Ferreira, J. S. S., & Segadilha, N. L. A. L. (2019). MNA-versão reduzida vs. NRS-2002: detecção do risco nutricional em pacientes idosos hospitalizados. *BRASPEN J*, v. 34(3), 276-280.
- Sproston, N. R., & Ashworth, J. J. (2018). Role of C-Reactive Protein at Sites of Inflammation and Infection. *Frontiers in Immunology*, 9, 754. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00754>
- Suchting, R., Colpo, G. D., Rocha, N. P., & Ahn, H. (2019). The Effect of Transcranial Direct Current Stimulation on Inflammation in Older Adults With Knee Osteoarthritis: A Bayesian Residual Change Analysis. *Biological Research For Nursing*, 22(1), 57–63. <https://doi.org/10.1177/1099800419869845>
- Tawfik, A., Elsherbiny, N. M., Zaidi, Y., & Rajpurohit, P. (2021). Homocysteine and Age-Related Central Nervous System Diseases: Role of Inflammation. *International journal of molecular sciences*, 22(12), 6259. <https://doi.org/10.3390/ijms22126259>
- Taylor, K. S., Verbakel, J. Y., Feakins, B. G., Price, C. P., Perera, R., Bankhead, C., & Plüddemann, A. (2018). Diagnostic accuracy of point-of-care natriuretic peptide testing for chronic heart failure in ambulatory care: systematic review and meta-analysis. *BMJ*, 361. <https://doi.org/10.1136/bmj.k1450>
- Teo, K. K., & Rafiq, T. (2021). Cardiovascular risk factors and prevention: a perspective from developing countries. *Canadian Journal of Cardiology*, 37(5), 733-743.
- Tian, H., Jiang, X., Duan, G., Chen, J., Liu, Q., Zhang, Y., Li, S., Bao, X., & Huang, H. (2023 de junho). Os marcadores inflamatórios pré-operatórios predizem desfechos clínicos pós-operatórios em pacientes submetidos à cirurgia valvar cardíaca: estudo retrospectivo de grande amostra. *Fronteiras em imunologia*, 14, 1159089. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1159089>
- Thomas, S., Alexander, C., & Cassady, B. A. (2021). Nutrition risk prevalence and nutrition care recommendations for hospitalized and critically-ill patients with COVID-19. *Clinical nutrition Espen*, 44, 38–49. <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2021.06.002>
- Timóteo, A. T., Silva, T. P., Moreira, R. I., Gonçalves, A., Soares, R., & Ferreira, R. C. (2020). Unidades de insuficiência cardíaca: estado da arte na abordagem da insuficiência cardíaca. *Revista Portuguesa de Cardiologia*, 39(6), 341–350. <https://doi.org/10.1016/j.repc.2020.02.007>
- Tooba, R., Mayuga, K. A., Wilson, R., & Tonelli, A. R. (2021). Dyspnea in Chronic Low Ventricular Preload States. *Annals of the American Thoracic Society*, 18(4), 573–581. <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.202005-581CME>

- Truong, D. Q., & Bikson, M. (2018). Physics of Transcranial Direct Current Stimulation Devices and Their History. *The Journal of ECT*, 34(3), 137–143. <https://doi.org/10.1097/YCT.0000000000000531>
- Tschöpe, C., Ammirati, E., Bozkurt, B., Caforio, A. L. P., Cooper, L. T., Felix, S. B., Hare, J. M., Heidecker, B., Heymans, S., Hübner, N., Kelle, S., Klingel, K., Maatz, H., Parwani, A. S., Spillmann, F., Starling, R. C., Tsutsui, H., Seferovic, P., & Van Linthout, S. (2021). Myocarditis and inflammatory cardiomyopathy: current evidence and future directions. *Nature Reviews. Cardiology*, 18(3), 169–193. <https://doi.org/10.1038/s41569-020-00435-x>
- Uribarri, A., Rojas, S. V., Hanke, J. S., Dogan, G., Siemeni, T., Kaufeld, T., Ius, F., Goecke, T., Rojas-Hernandez, S., Warnecke, G., Bara, C., Avsar, M., & Haverich, A.. (2019) em Português em Português em (em inglês). Valor prognóstico do índice de risco nutricional em candidatos para terapia de dispositivo de assistência ventricular esquerda de fluxo contínuo. *Revista espanola de cardiologia (English ed.)*, , -72(8), 608–615. <https://doi.org/10.1016/j.rec.2018.05.029>
- Vaduganathan, M., Claggett, B. L., Jhund, P. S., Cunningham, J. W., Pedro Ferreira, J., Zannad, F., Packer, M., Fonarow, G. C., McMurray, J. J. V., & Solomon, S. D. (2020). Estimating lifetime benefits of comprehensive disease-modifying pharmacological therapies in patients with heart failure with reduced ejection fraction: a comparative analysis of three randomised controlled trials. *The Lancet*, 396(10244), 121–128. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30748-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30748-0)
- Van Dronkelaar, C., van Velzen, A., Abdelrazek, M., van der Steen, A., Weijs, P. J. M., & Tieland, M. (2018). Minerals and Sarcopenia; The Role of Calcium, Iron, Magnesium, Phosphorus, Potassium, Selenium, Sodium, and Zinc on Muscle Mass, Muscle Strength, and Physical Performance in Older Adults: A Systematic Review. *Journal of the American Medical Directors Association*, 19(1), 6–11.e3. <https://doi.org/10.1016/j.jamda.2017.05.026>
- Van de Lagemaat, E. E., de Groot, L. C., & van den Heuvel, E. G. (2019). Vitamin B12 in relation to oxidative stress: a systematic review. *Nutrients*, 11(2), 482.
- Van der Wal HH, Comin-Colet J, Klip IT, *et al* Vitamina B12 e deficiência de folato na insuficiência cardíaca crônica *Coração* 2015;101:302-310.
- Viêgas, C. V. (2010). Extração e caracterização dos lipídeos da microalga *Chlorella pyrenoidosa* visando à produção de ésteres graxos [Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio Grande]. Repositório Institucional da FURG. <https://www.repositorio.furg.br/handle/1/6328>
- Vieira, Sônia. *Análise de variância*. São Paulo: Atlas, 2006.
- Villamar, M. F., Wivatvongvana, P., Patumanond, J., Bikson, M., Truong, D. Q., Datta, A., & Fregni, F. (2013). Focal modulation of the primary motor cortex in fibromyalgia using 4×1-ring high-definition transcranial direct current stimulation (HD-tDCS): immediate and delayed analgesic effects of cathodal and anodal stimulation. *The Journal of Pain*, 14(4), 371–383. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2012.12.007>

- Volkert, D., Beck, A. M., Cederholm, T., Cruz-Jentoft, A., Hooper, L., Kiesswetter, E., Maggio, M., Raynaud-Simon, A., Sieber, C., Sobotka, L., van Asselt, D., Wirth, R., & Bischoff, S. C. (2022). Espen practical guideline: Clinical nutrition and hydration in geriatrics. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*, *41*(4), 958–989. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2022.01.024>
- Waldron, N. H., Fudim, M., Mathew, J. P., & Piccini, J. P. (2019). Neuromodulation for the Treatment of Heart Rhythm Disorders. *JACC. Basic to translational science*, *4*(4), 546–562. <https://doi.org/10.1016/j.jacbts.2019.02.009>
- Wischmeyer, P. E. (2021). Overcoming challenges to enteral nutrition delivery in critical care. *Current opinion in critical care*, *27*(2), 169–176. <https://doi.org/10.1097/MCC.0000000000000801>
- White, H., & Gurney, T. (2024). Chlorella supplementation reduces blood lactate concentration and increases O₂ pulse during submaximal and maximal cycling in young healthy adults. *Nutrients*, *16*(5), 697. <https://doi.org/10.3390/nu16050697>
- Wolffenbuttel, B. H. R., Owen, P. J., Ward, M., & Green, R. (2023). Vitamin B12. *BMJ*, *380*, 071725. <https://doi.org/10.1136/bmj-2022-071725>
- Woods, A. J., Antal, A., Bikson, M., Boggio, P. S., Brunoni, A. R., Celnik, P., Cohen, L. G., Fregni, F., Herrmann, C. S., Kappenman, E. S., Knotkova, H., Liebetanz, D., Miniussi, C., Miranda, P. C., Paulus, W., Priori, A., Reato, D., Stagg, C., Wenderoth, N., & Nitsche, M. A. (2016). A technical guide to tDCS, and related non-invasive brain stimulation tools. *Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, *127*(2), 1031–1048. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2015.11.012>
- World Health Organization Haemoglobin concentrations for the diagnosis of anaemia and assessment of severity. Acessado em Julho, 05, 2024.
- Wu, X., Zhang, L., Miao, Y., Yang, J., Wang, X., Wang, C.-C., Feng, J., & Wang, L. (2019). Homocysteine causes vascular endothelial dysfunction by disrupting endoplasmic reticulum redox homeostasis. *Redox Biology*, *20*, 46–59. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.09.021>
- Yang, P. H., Lin, M. C., Liu, Y. Y., Lee, C. L., & Chang, N. J. (2019). Effect of Nutritional Intervention Programs on Nutritional Status and Readmission Rate in Malnourished Older Adults with Pneumonia: A Randomized Control Trial. *International journal of environmental research and public health*, *16*(23), 4758. <https://doi.org/10.3390/ijerph16234758>
- Yuan, S., Mason, A. M., Carter, P., Burgess, S., & Larsson, S. C. (2021). Homocysteine, B vitamins, and cardiovascular disease: A Mendelian randomization study. *BMC Medicine*, *19*, 97. <https://doi.org/10.1186/s12916-021-01977-8>
- Yugar-Toledo JC. Estimulação Cerebral Transcraniana não Farmacológica e não Invasiva para o Tratamento da Hipertensão Arterial [Non-Pharmacologic and Noninvasive Transcranial Brain Stimulation for the Treatment of Arterial Hypertension]. *Arq Bras Cardiol*. 2024

Mar 6;121(1):e20230851. Portuguese. doi: 10.36660/abc.20230851. PMID: PMC11081192.

Zaric, B. L., Obradovic, M., Bajic, V., Haidara, M. A., Jovanovic, M., & Isenovic, E. R. (2019). Homocysteine and Hyperhomocysteinaemia. *Current medicinal chemistry*, 26(16), 2948–2961. <https://doi.org/10.2174/0929867325666180313105949>

Zhazykbayeva, S., Hassoun, R., Herwig, M., Budde, H., Kovács, R., Mannherz, H. G., El-Battrawy, I., Tóth, A., Schmidt, W. E., Mügge, A., & Hamdani, N. (2023). Oxidative stress and inflammation distinctly drive molecular mechanisms of diastolic dysfunction and remodeling in female and male heart failure with preserved ejection fraction rats. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 10. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2023.1157398>

Zheng, Y., Inoue, Y. H., Kohno, N., Fujishima, M., Okumura, E., & Sato, K. (2020). Phenethylamine in hot water extract of *Chlorella pyrenoidosa* expands lifespan of SOD1 mutant adults of *Drosophila melanogaster* at very low dose. *Journal of Food Bioactives*, 9, 52-57. <https://doi.org/10.31665/JFB.2020.9218>

Zulfiqar AA, Andres E, Lorenzo Villalba N. Hipervitaminosis B12. Nuestra experiencia y una revisión [Hypervitaminosis B12. Our experience and a review]. *Medicina (B Aires)*. 2019;79(5):391-396

ANEXO I - TCLE

**GOVERNO DO ESTADO DA PARAÍBA
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
PROJETO: NEUROESTIMULAÇÃO NÃO-INVASIVA COMO ADJUVANTE NO TRATAMENTO DE
PACIENTES COM AFECÇÕES CARDIOVASCULARES: ESTUDO RANDOMIZADO
CONTROLADO**

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
(PARA MAIORES DE 18 ANOS OU EMANCIPADOS)**

Convidamos o (a) Sr. (a) para participar como voluntário (a) da pesquisa **NEUROESTIMULAÇÃO NÃO-INVASIVA E USO DE *Chlorella pyreïnodosa* PARA TRATAMENTO ADJUVANTE DE PACIENTES COM INSUFICIÊNCIA CARDÍACA**, que está sob a responsabilidade dos (a) pesquisadores VANESSA MEIRA CINTRA, JAILANE DE SOUZA AQUINO, SUELLEN MARY ANDRADE MARINHO, para contato com os pesquisadores responsáveis você pode entrar em contato pelo endereço Av. Dom Pedro II, 1826, Torre, João Pessoa -PB, telefone (83) 3211- 9098 (inclusive ligações a cobrar) pelo e-mail: vanessameiracintra@gmail.com, telefone (83) 999966528.

Todas as suas dúvidas podem ser esclarecidas com o responsável por esta pesquisa. Apenas quando todos os esclarecimentos forem dados e você concorde com a realização do estudo, pedimos que rubriche as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma via lhe será entregue e a outra ficará com o pesquisador responsável.

Você estará livre para decidir participar ou recusar-se. Caso não aceite participar, não haverá nenhum problema, desistir é um direito seu, bem como será possível retirar o consentimento em qualquer fase da pesquisa, também sem nenhuma penalidade.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA

Descrição da pesquisa: Avaliar os efeitos da HD-tDCS e da assistência nutricional para melhora da variabilidade da frequência cardíaca dos níveis de B12 e de marcadores cardíacos em pacientes com Insuficiência Cardíaca.

- Você, enquanto voluntário, participará da pesquisa recebendo um tratamento terapêutico para auxílio HD-tDCS, por, em média, 20 minutos por no máximo 10 dias. Serão colocados eletrodos em pontos específicos da sua cabeça, por profissionais devidamente treinados, a fim de realizar uma neuroestimulação, com vistas a melhora do desempenho respiratório e redução do delírium.
- Os profissionais responsáveis são colaboradores da pesquisa e deverão realizar o procedimento sem que haja interferência ao tratamento indicado pela equipe médica do Hospital.
- Você também receberá um alimento natural armazenado em cápsulas, denominado de *Chlorella*. As orientações nutricionais serão apresentadas para você. Como trata-se de alimento não há risco à saúde, mas sim comprovação científica de benefícios. Em caso de algum sintoma como náuseas ou dor abdominal, você deve parar o consumo e alertar aos pesquisadores.
- O tratamento não oferece riscos à saúde ou à integridade física das pessoas envolvidas, porém podem haver efeitos adversos como prurido local. Afirmamos que o estudo será monitorado pelo CMSD, regulado pelo núcleo de pesquisas do projeto, em associação com pesquisadores externos vinculados à Universidade Estadual do Rio de Janeiro, Universidade de Michigan e City College of New York, sendo composto por especialistas em reabilitação, ética, estatística e metodologia. Além de contar com uma Comissão para avaliar cada caso.
- Você poderá desistir da pesquisa a qualquer momento sem nenhum ônus, caso isto ocorra seus dados não farão parte da pesquisa.
- Dentre os benefícios da pesquisa estão: a continuidade do cuidado dos pacientes de alta hospitalar; otimização do acesso a serviços de saúde de pacientes admitidos na rede de saúde estadual e municipal; realinhamento da rede atenção à saúde estadual e municipal; organização de fluxos e processos de gestão do cuidado em saúde; capacitação de profissionais de saúde envolvidos no processo de atendimento remoto.

As informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa (questionários, gravações e registros telefônicos), ficarão armazenados em computadores de uso restrito às pessoas da Secretaria da Saúde do Estado (SES/PB), sob a responsabilidade dos pesquisadores responsáveis, Av. Dom Pedro II, 1826, Torre, João Pessoa -PB, telefone (83) 3211- 9098, pelo período de mínimo 5 anos, após o término da pesquisa.

Nada lhe será pago e nem será cobrado para participar desta pesquisa, pois a aceitação é voluntária, mas fica também garantida a indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial.

Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da SES-PB no endereço: **Av Dom Pedro II, 1826, Torre, telefone para contato (83) 3214-1732.**

(assinatura do pesquisador)

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)

Eu, _____, CPF _____, abaixo assinado, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e de ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do estudo **NEUROESTIMULAÇÃO NÃO-INVASIVA E USO DE *CHLORELLA PYREINODOSA* PARA TRATAMENTO ADJUVANTE DE PACIENTES COM INSUFICIÊNCIA CARDÍACA**”, como voluntário (a). Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo (a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade.

Local e data _____

Assinatura do participante: _____

Impressão
digital
(opcional)

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e o aceite do voluntário em participar. (02 testemunhas não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome:
Assinatura:
Nome:
Assinatura:

ANEXO II - Parecer Comitê de Ética

SECRETARIA DE SAÚDE DO
ESTADO DA PARAÍBA -

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: NEUROESTIMULAÇÃO NA O- INVASIVA E USO DE CHLORELLA PYREINODOSA PARA TRATAMENTO ADJUVANTE DE PACIENTES COM

Pesquisador: Vanessa Meira Cintra

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 71646823.2.0000.5186

Instituição Proponente: SECRETARIA DE ESTADO DA SAUDE - SES

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.303.260

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto de pesquisa intitulado de "Neuroestimulação não-invasiva e uso de Chlorella Pyreïnodosa para tratamento adjuvante de pacientes com insuficiência cardíaca" que possui como pesquisadoras: Vanessa Meira Cintra, Jailane de Souza Aquino e Suellen Mary Andrade Marinho

Objetivo da Pesquisa:

Tem por objetivo principal: Avaliar os efeitos da HD-IDCS e da assistência nutricional para melhora da variabilidade da frequência cardíaca dos níveis de B12 e de marcadores cardíacos em pacientes com Insuficiência Cardíaca. E como objetivos específicos: Avaliar as modificações da terapia combinada (HDIDCS e da terapia nutricional no perfil bioquímico e nutricional dos pacientes distúrbios cardiovasculares; Avaliar os efeitos da HD-IDCS e do consumo de alimento funcional nos níveis de B12 e marcadores cardíacos em pacientes com distúrbios cardiovasculares; Analisar as alterações bioquímicas inflamatórias mediante a terapia por HD-IDCS e consumo de alimento funcional nos pacientes arrolados no estudo; Identificar preditores clínicos associados à resposta ao tratamento (HDtdcs e suplementação nutricional) com o emprego de machine learning;

Avaliar se a ETCC-HD4x1 promove melhora da dispnéia, da função orgânica, dos níveis de fadiga,

Endereço: Av. D. Pedro II, nº 1826

Bairro: Torre

CEP: 58.040-440

UF: PB

Município: JOAO PESSOA

Telefone: (83)3211-9831

E-mail: comitedeeticasespb@gmail.com

SECRETARIA DE SAÚDE DO
ESTADO DA PARAÍBA -



Continuação do Parecer: 6.303.260

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

JOAO PESSOA, 15 de Setembro de 2023

Assinado por:

CYLENE BEZERRA DE MEDEIROS NOBREGA
(Coordenador(a))

Endereço: Av. D. Pedro II, nº 1826

Bairro: Torre

CEP: 58.040-440

UF: PB

Município: JOAO PESSOA

Telefone: (83)3211-9831

E-mail: comitedeeticasespb@gmail.com

ANEXO III - Itens do SPIRIT

Table 1. SPIRIT 2013 Checklist: Recommended Items to Address in a Clinical Trial Protocol and Related Documents*		
Section/Item	Item Number	Description
Administrative information		
Title	1	Descriptive title identifying the study design, population, interventions, and, if applicable, trial acronym
Trial registration	2a	Trial identifier and registry name. If not yet registered, name of intended registry.
	2b	All items from the World Health Organization Trial Registration Data Set (Appendix Table , available at www.annals.org)
Protocol version	3	Date and version identifier
Funding	4	Sources and types of financial, material, and other support
Roles and responsibilities	5a	Names, affiliations, and roles of protocol contributors
	5b	Name and contact information for the trial sponsor
	5c	Role of study sponsor and funders, if any, in study design; collection, management, analysis, and interpretation of data; writing of the report; and the decision to submit the report for publication, including whether they will have ultimate authority over any of these activities
	5d	Composition, roles, and responsibilities of the coordinating center, steering committee, end point adjudication committee, data management team, and other individuals or groups overseeing the trial, if applicable (see item 21a for DMC)
Introduction		
Background and rationale	6a	Description of research question and justification for undertaking the trial, including summary of relevant studies (published and unpublished) examining benefits and harms for each intervention
	6b	Explanation for choice of comparators
Objectives	7	Specific objectives or hypotheses
Trial design	8	Description of trial design, including type of trial (e.g., parallel group, crossover, factorial, single group), allocation ratio, and framework (e.g., superiority, equivalence, noninferiority, exploratory)
Appendices		
Informed consent materials	32	Model consent form and other related documentation given to participants and authorized surrogates
Biological specimens	33	Plans for collection, laboratory evaluation, and storage of biological specimens for genetic or molecular analysis in the current trial and for future use in ancillary studies, if applicable
Methods		
Participants, interventions, and outcomes		
Study setting	9	Description of study settings (e.g., community clinic, academic hospital) and list of countries where data will be collected. Reference to where list of study sites can be obtained
Eligibility criteria	10	Inclusion and exclusion criteria for participants. If applicable, eligibility criteria for study centers and individuals who will perform the interventions (e.g., surgeons, psychotherapists)
Interventions	11a	Interventions for each group with sufficient detail to allow replication, including how and when they will be administered
	11b	Criteria for discontinuing or modifying allocated interventions for a given trial participant (e.g., drug dose change in response to harms, participant request, or improving/worsening disease)
	11c	Strategies to improve adherence to intervention protocols, and any procedures for monitoring adherence (e.g., drug tablet return, laboratory tests)
	11d	Relevant concomitant care and interventions that are permitted or prohibited during the trial
Outcomes	12	Primary, secondary, and other outcomes, including the specific measurement variable (e.g., systolic blood pressure), analysis metric (e.g., change from baseline, final value, time to event), method of aggregation (e.g., median, proportion), and time point for each outcome. Explanation of the clinical relevance of chosen efficacy and harm outcomes is strongly recommended
Participant timeline	13	Time schedule of enrollment, interventions (including any run-ins and washouts), assessments, and visits for participants. A schematic diagram is highly recommended (Figure).
Sample size	14	Estimated number of participants needed to achieve study objectives and how it was determined, including clinical and statistical assumptions supporting any sample size calculations
Recruitment	15	Strategies for achieving adequate participant enrollment to reach target sample size
Assignment of interventions (for controlled trials)		
Allocation		
Sequence generation	16a	Method of generating the allocation sequence (e.g., computer-generated random numbers), and list of any factors for stratification. To reduce predictability of a random sequence, details of any planned restriction (e.g., blocking) should be provided in a separate document that is unavailable to those who enroll participants or assign interventions.
Allocation concealment mechanism	16b	Mechanism of implementing the allocation sequence (e.g., central telephone; sequentially numbered, opaque, sealed envelopes), describing any steps to conceal the sequence until interventions are assigned
Implementation	16c	Who will generate the allocation sequence, who will enroll participants, and who will assign participants to interventions
Blinding (masking)	17a	Who will be blinded after assignment to interventions (e.g., trial participants, care providers, outcome assessors, data analysts), and how
	17b	If blinded, circumstances under which unblinding is permissible, and procedure for revealing a participant's allocated intervention during the trial

Data collection, management, and analysis		
Data collection methods	18a	Plans for assessment and collection of outcome, baseline, and other trial data, including any related processes to promote data quality (e.g., duplicate measurements, training of assessors) and a description of study instruments (e.g., questionnaires, laboratory tests) along with their reliability and validity, if known. Reference to where data collection forms can be found, if not in the protocol.
	18b	Plans to promote participant retention and complete follow-up, including list of any outcome data to be collected for participants who discontinue or deviate from intervention protocols
Data management	19	Plans for data entry, coding, security, and storage, including any related processes to promote data quality (e.g., double data entry; range checks for data values). Reference to where details of data management procedures can be found, if not in the protocol.
Statistical methods	20a	Statistical methods for analyzing primary and secondary outcomes. Reference to where other details of the statistical analysis plan can be found, if not in the protocol.
	20b	Methods for any additional analyses (e.g., subgroup and adjusted analyses)
	20c	Definition of analysis population relating to protocol nonadherence (e.g., as-randomized analysis), and any statistical methods to handle missing data (e.g., multiple imputation)
Monitoring		
Data monitoring	21a	Composition of DMC; summary of its role and reporting structure; statement of whether it is independent from the sponsor and competing interests; and reference to where further details about its charter can be found, if not in the protocol. Alternatively, an explanation of why a DMC is not needed.
	21b	Description of any interim analyses and stopping guidelines, including who will have access to these interim results and make the final decision to terminate the trial
Harms	22	Plans for collecting, assessing, reporting, and managing solicited and spontaneously reported adverse events and other unintended effects of trial interventions or trial conduct
Auditing	23	Frequency and procedures for auditing trial conduct, if any, and whether the process will be independent from investigators and the sponsor
Ethics and dissemination		
Research ethics approval	24	Plans for seeking REC/IRB approval
Protocol amendments	25	Plans for communicating important protocol modifications (e.g., changes to eligibility criteria, outcomes, analyses) to relevant parties (e.g., investigators, RECs/IRBs, trial participants, trial registries, journals, regulators)
Consent or assent	26a	Who will obtain informed consent or assent from potential trial participants or authorized surrogates, and how (see item 32)
	26b	Additional consent provisions for collection and use of participant data and biological specimens in ancillary studies, if applicable
Confidentiality	27	How personal information about potential and enrolled participants will be collected, shared, and maintained in order to protect confidentiality before, during, and after the trial
Declaration of interests	28	Financial and other competing interests for principal investigators for the overall trial and each study site
Access to data	29	Statement of who will have access to the final trial data set, and disclosure of contractual agreements that limit such access for investigators
Ancillary and post-trial care	30	Provisions, if any, for ancillary and post-trial care, and for compensation to those who suffer harm from trial participation
Dissemination policy	31a	Plans for investigators and sponsor to communicate trial results to participants, health care professionals, the public, and other relevant groups (e.g., via publication, reporting in results databases, or other data-sharing arrangements), including any publication restrictions
	31b	Authorship eligibility guidelines and any intended use of professional writers
	31c	Plans, if any, for granting public access to the full protocol, participant-level data set, and statistical code

Anexo IV - Ferramentas da Pesquisa



Reduzir (Ctrl + sinal de menos)

Ficha de Avaliação

Dados Iniciais

Nome do Pesquisador: Data da coleta:

Setor de internação e leito: Número do prontuário:

Nome do participante:

Data de Nascimento: Código de Randomização:

Idade: Sexo:

Fumava? Quanto e por quanto tempo?

Fazia uso de bebida alcoólica? Se sim, frequentemente ou esporadicamente?

Praticava atividade física? Se sim, frequentemente ou esporadicamente?

Telefone: Ocupação:

Avaliação Clínica

Data de admissão hospitalar: Tempo total de internação (dias):

Comorbidades Associadas (Diabetes, Hipertensão, Doença Renal crônica, Obesidade, Cirrose, etc):

Medicações utilizadas no dia da avaliação (exceto as "se necessário") - ver a prescrição:

Data da cirurgia: Data da alta hospitalar:

Motivo do término (óbito, alta, desistência, regular/finalizou o protocolo):

SOFA

PaO₂ (mmHg): FIO₂ (%): Plaquetas:

Pressão arterial média ou administração de vasoativos (sublinhar a opção abaixo adequada):

PAM > 70 mmHg

Dopa < 5 ou Dobutamina

Dopa > 5 ou Epi/Nora = 0.1

Dopa > 15 ou Epi/Nora > 0.1

Bilirrubina (mg/dl): Creatinina (mg/dl): Débito urinário (ml/dia):

Sinais Vitais

SpO₂ (%): FC (bpm): FR (irpm): Temperatura:

Pressão Arterial:

Código de Randomização: _____

Data da coleta: _____

**PERFIL MULTIDIMENSIONAL DE DISPNEIA****Escala A1**Use essa escala para graduar o **desagrado ou desconforto** da sua sensação ao respirar, **quão ruim é (era) sua sensação ao respirar**.

Por favor, foque durante o seguinte período: _____

← ← 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

AGRADÁVEL NEUTRO INSUPORTÁVEL

**ESCALA DE MOBILIDADE NA UTI (IMS)**

Classificação	Definição
0 Nada (deitado no leito)	Relato passivamente ou exercitado passivamente pela equipe, mas não se movimentando ativamente
1 Sentado no leito, exercícios no leito	Qualquer atividade no leito, incluindo rolar, ponte, exercícios ativos, cicloergômetro e exercícios ativos assistidos; sem sair do leito ou sentado à beira do leito
2 Transferido passivamente para a cadeira (sem ortostatismo)	Transferência para cadeira por meio de guincho, elevador ou passante, sem ortostatismo ou sem sentar à beira do leito
3 Sentado à beira do leito	Podem ser auxiliado pela equipe, mas envolve sentar ativamente à beira do leito e com algum controle de tronco
4 Ortostatismo	Sustentação do peso sobre os pés na posição ortostática, com ou sem ajuda. Pode ser considerado o uso do guincho ou prancha ortostática.
5 Transferência do leito para cadeira	Ser capaz de dar pesos ou arrastar os pés na posição em pé até a cadeira. Isto envolve transferir ativamente o peso de uma perna para outra para ir até a cadeira. Se o paciente já ficou em pé com auxílio de algum equipamento médico, ele deve andar até a cadeira (não aplicável se o paciente é levado por algum equipamento de elevação)
6 Marcha estacionária (à beira do leito)	Ser capaz de realizar marcha estacionária erguendo os pés de forma alternada (deve ser capaz de dar no mínimo 4 passos, dois em cada pé), com ou sem auxílio
7 Deambular com auxílio de 2 ou mais pessoas	O paciente consegue se distanciar pelo menos 5 metros do leito/ cadeira com auxílio de 2 ou mais pessoas
8 Deambular com auxílio de 1 pessoa	O paciente consegue se distanciar pelo menos 5 metros do leito/ cadeira com o auxílio de 1 pessoa
9 Deambulação independente com auxílio de um dispositivo de marcha	O paciente consegue se distanciar pelo menos 5 metros do leito/ cadeira com o uso de dispositivos de marcha, mas sem o auxílio de outra pessoa. Em indivíduos cadeirantes, este nível de atividade implica em se locomover com a cadeira de rodas de forma independente por 5 metros para longe do leito/ cadeira.
10 Deambulação independente sem auxílio de um dispositivo de marcha	O paciente consegue se distanciar pelo menos 5 metros do leito/ cadeira sem o uso de dispositivos de marcha ou o auxílio de outra pessoa.

**ESCALA DE SEVERIDADE DE FADIGA (FSS)**

Orientar o paciente a escolher um escore de 1 a 7. O escore 1 indica uma forte discordância com o item e o 7 uma forte concordância. As afirmações/itens referem-se as duas últimas semanas.

Descrição dos itens	Escore						
1 Minha motivação é menor quando eu estou fadigado	1	2	3	4	5	6	7
2 Exercícios me deixam fadigado	1	2	3	4	5	6	7
3 Eu estou facilmente fadigado	1	2	3	4	5	6	7
4 A fadiga interfere com meu desempenho	1	2	3	4	5	6	7
5 A fadiga causa problemas frequentes para mim	1	2	3	4	5	6	7
6 Minha fadiga impede um desempenho físico constante	1	2	3	4	5	6	7
7 A fadiga interfere com a execução de certas obrigações e responsabilidades	1	2	3	4	5	6	7
8 A fadiga é um dos três sintomas mais incapacitantes que tenho	1	2	3	4	5	6	7
9 A fadiga interfere com meu trabalho, minha família ou com minha vida social	1	2	3	4	5	6	7
Total							

** Itens acima de 20 podem ser considerados como indicativo de presença de fadiga

**CLASSIFICAÇÃO DA NEW YORK HEART ASSOCIATION (NYHA)**

Classe I	Assintomático. Paciente com cardiopatia estrutural definida e diagnosticada, porém sem sintomas e sem limitações para atividades físicas.
Classe II	Levemente assintomático. Paciente apresenta sintomas desencadeados por atividades habituais. Ex: subir 1-2 lances de escada.
Classe III	Sintomático. Paciente apresenta sintomas com atividades menores que as habituais. Ex: sintomas para tomar banho, comer, falar.
Classe IV	Sintomático em repouso.

Anexo V - Autorizações para Uso de Imagem



49 Spadina Ave., Suite 200
Toronto ON M5V 2J1 Canada
www.biorender.com

Confirmation of Publication and Licensing Rights

May 1st, 2023
Science Suite Inc.

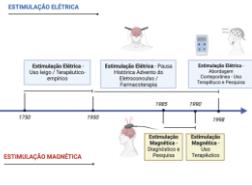
Subscription: Student Plan
Agreement number: OC2U8808MAY
Journal name: Universidade Federal do Paraíba

To whom this may concern,

This document is to confirm that Vinicius Nóbrega has been granted a license to use the BioRender content, including icons, templates, and other original artwork, appearing in the attached completed graphic pursuant to BioRender's Academic License Terms. This license permits BioRender content to be sublicensed for use in journal publications.

All rights and ownership of BioRender content are reserved by BioRender. All completed graphics must be accompanied by the following citation: "Created with BioRender.com".

BioRender content included in the completed graphic is not licensed for any commercial uses beyond publication in a journal. For any commercial use of this figure, users may, if allowed, recreate it in BioRender under an Industry BioRender Plan.



For any questions regarding this document, or other questions about publishing with BioRender refer to our BioRender Publication Guide, or contact BioRender Support at support@biorender.com



49 Spadina Ave., Suite 200
Toronto ON M5V 2J1 Canada
www.biorender.com

Confirmation of Publication and Licensing Rights

September 17th, 2024

Subscription: Student Plan - Academic
Agreement number: VX27BG38CH
Publication name: Universidade Federal do Paraíba

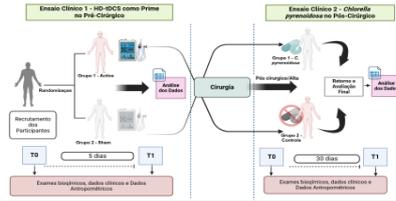
Citation to Use: Created in BioRender: Nóbrega, V. (2024) BioRender.com/d42a644

To whom this may concern,

This document is to confirm that Vinicius Nóbrega has been granted a license to use the BioRender Content, including icons, templates, and other original artwork, appearing in the attached Completed Graphic pursuant to BioRender's Academic License Terms. This license permits BioRender Content to be sublicensed for use in publications (journals, textbooks, websites, etc.).

All rights and ownership of BioRender Content are reserved by BioRender. All Completed Graphics must be accompanied by the following citation: "Created in BioRender. Nóbrega, V. (2024) BioRender.com/d42a644".

BioRender Content included in the Completed Graphic is not licensed for any commercial uses beyond use in a publication. For any commercial use of this figure, users may, if allowed, recreate it in BioRender under an Industry BioRender Plan.



For any questions regarding this document, or other questions about publishing with BioRender, please refer to our BioRender Publication Guide, or contact BioRender Support at support@biorender.com



49 Spadina Ave., Suite 200
Toronto ON M5V 2J1 Canada
www.biorender.com

Confirmation of Publication and Licensing Rights

September 17th, 2024

Subscription: Student Plan - Academic
Agreement number: RU27BG4CPS
Publication name: Universidade Federal do Paraíba

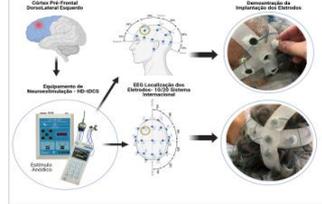
Citation to Use: Created in BioRender: Nóbrega, V. (2024) BioRender.com/911v147

To whom this may concern,

This document is to confirm that Vinicius Nóbrega has been granted a license to use the BioRender Content, including icons, templates, and other original artwork, appearing in the attached Completed Graphic pursuant to BioRender's Academic License Terms. This license permits BioRender Content to be sublicensed for use in publications (journals, textbooks, websites, etc.).

All rights and ownership of BioRender Content are reserved by BioRender. All Completed Graphics must be accompanied by the following citation: "Created in BioRender. Nóbrega, V. (2024) BioRender.com/911v147".

BioRender Content included in the Completed Graphic is not licensed for any commercial uses beyond use in a publication. For any commercial use of this figure, users may, if allowed, recreate it in BioRender under an Industry BioRender Plan.



For any questions regarding this document, or other questions about publishing with BioRender, please refer to our BioRender Publication Guide, or contact BioRender Support at support@biorender.com



49 Spadina Ave., Suite 200
Toronto ON M5V 2J1 Canada
www.biorender.com

Confirmation of Publication and Licensing Rights

September 17th, 2024

Subscription: Student Plan - Academic
Agreement number: XW27BG56PF
Publication name: Universidade Federal do Paraíba

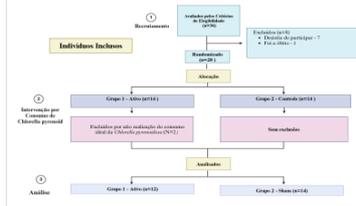
Citation to Use: Created in BioRender: Nóbrega, V. (2024) BioRender.com/45a646

To whom this may concern,

This document is to confirm that Vinicius Nóbrega has been granted a license to use the BioRender Content, including icons, templates, and other original artwork, appearing in the attached Completed Graphic pursuant to BioRender's Academic License Terms. This license permits BioRender Content to be sublicensed for use in publications (journals, textbooks, websites, etc.).

All rights and ownership of BioRender Content are reserved by BioRender. All Completed Graphics must be accompanied by the following citation: "Created in BioRender. Nóbrega, V. (2024) BioRender.com/45a646".

BioRender Content included in the Completed Graphic is not licensed for any commercial uses beyond use in a publication. For any commercial use of this figure, users may, if allowed, recreate it in BioRender under an Industry BioRender Plan.



For any questions regarding this document, or other questions about publishing with BioRender, please refer to our BioRender Publication Guide, or contact BioRender Support at support@biorender.com



49 Spadina Ave., Suite 200
Toronto ON M5V 2J1 Canada
www.biorender.com

Confirmation of Publication and Licensing Rights

September 17th, 2024

Subscription: Student Plan - Academic
Agreement number: SW27BG5VVW
Publication name: Universidade Federal do Paraíba

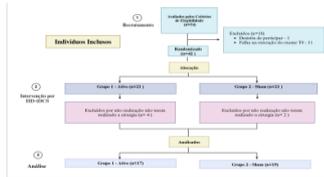
Citation to Use: Created in BioRender: Nóbrega, V. (2024) BioRender.com/31y608

To whom this may concern,

This document is to confirm that Vinicius Nóbrega has been granted a license to use the BioRender Content, including icons, templates, and other original artwork, appearing in the attached Completed Graphic pursuant to BioRender's Academic License Terms. This license permits BioRender Content to be sublicensed for use in publications (journals, textbooks, websites, etc.).

All rights and ownership of BioRender Content are reserved by BioRender. All Completed Graphics must be accompanied by the following citation: "Created in BioRender. Nóbrega, V. (2024) BioRender.com/31y608".

BioRender Content included in the Completed Graphic is not licensed for any commercial uses beyond use in a publication. For any commercial use of this figure, users may, if allowed, recreate it in BioRender under an Industry BioRender Plan.



For any questions regarding this document, or other questions about publishing with BioRender, please refer to our BioRender Publication Guide, or contact BioRender Support at support@biorender.com

Anexo VI - Artigos Publicados e Enviados para Publicação da Tese

Brain Stimulation 16 (2023) 100–107



Contents lists available at ScienceDirect

Brain Stimulation

journal homepage: <http://www.journals.elsevier.com/brain-stimulation>

Non-invasive brain stimulation for fatigue in post-acute sequelae of SARS-CoV-2 (PASC)



Kelly Santana ^a, Eduardo França ^a, João Sato ^b, Ana Silva ^a, Maria Queiroz ^a, Julia de Farias ^a, Danniely Rodrigues ^a, Iara Souza ^a, Vanessa Ribeiro ^c, Egas Caparelli-Dáquer ^d, Antonio L. Teixeira ^{e,f}, Leigh Charvet ^g, Abhishek Datta ^{h,i}, Marom Bikson ^h, Suellen Andrade ^{a,*}

^a Federal University of Paraíba, João Pessoa, Brazil

^b Center of Mathematics, Computing and Cognition, Federal University of ABC, Santo André, Brazil

^c Department of Health, Government of Paraíba, João Pessoa, Brazil

^d Nervous System Electric Stimulation Lab, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil

^e Department of Psychiatry and Behavioral Sciences, McGovern Medical School, University of Texas Health Science Center, Houston, United States

^f Faculdade Santa Casa BH, Belo Horizonte, Brazil

^g Department of Neurology, New York University Langone Health, New York, United States

^h Department of Biomedical Engineering, The City College of New York of CUNY, New York, United States

ⁱ Research & Development, Soterix Medical, Inc., New York, United States

ARTICLE INFO

Article history:

Received 29 October 2022

Received in revised form

10 January 2023

Accepted 19 January 2023

Available online 21 January 2023

Keywords:

Post-acute sequelae of Sars-COV-2

Fatigue

Anxiety

Non-invasive brain stimulation

High-Definition transcranial direct current stimulation

Respiratory rehabilitation

ABSTRACT

Background: and purpose: Fatigue is among the most common persistent symptoms following post-acute sequelae of Sars-COV-2 infection (PASC). The current study investigated the potential therapeutic effects of High-Definition transcranial Direct Current Stimulation (HD-tDCS) associated with rehabilitation program for the management of PASC-related fatigue.

Methods: Seventy patients with PASC-related fatigue were randomized to receive 3 mA or sham HD-tDCS targeting the left primary motor cortex (M1) for 30 min paired with a rehabilitation program. Each patient underwent 10 sessions (2 sessions/week) over five weeks. Fatigue was measured as the primary outcome before and after the intervention using the Modified Fatigue Impact Scale (MFIS). Pain level, anxiety severity and quality of life were secondary outcomes assessed, respectively, through the McGill Questionnaire, Hamilton Anxiety Rating Scale (HAM-A) and WHOQOL.

Results: Active HD-tDCS resulted in significantly greater reduction in fatigue compared to sham HD-tDCS (mean group MFIS reduction of 22.11 points vs 10.34 points). Distinct effects of HD-tDCS were observed in fatigue domains with greater effect on cognitive (mean group difference 8.29 points; effect size 1.1; 95% CI 3.56–13.01; $P < .0001$) and psychosocial domains (mean group difference 2.37 points; effect size 1.2; 95% CI 1.34–3.40; $P < .0001$), with no significant difference between the groups in the physical subscale (mean group difference 0.71 points; effect size 0.1; 95% CI 4.47–5.90; $P = .09$). Compared to sham, the active HD-tDCS group also had a significant reduction in anxiety (mean group difference 4.88; effect size 0.9; 95% CI 1.93–7.84; $P < .0001$) and improvement in quality of life (mean group difference 14.80; effect size 0.7; 95% CI 7.87–21.73; $P < .0001$). There was no significant difference in pain (mean group difference -0.74 ; no effect size; 95% CI 3.66–5.14; $P = .09$).

Conclusion: An intervention with M1 targeted HD-tDCS paired with a rehabilitation program was effective in reducing fatigue and anxiety, while improving quality of life in people with PASC.

© 2023 Published by Elsevier Inc. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Registration Trial [ClinicalTrials.gov](https://clinicaltrials.gov) Identifier: NCT05289115.

* Corresponding author. Health Center, Neuroscience and Aging Laboratory, Campus I, 58051-085, Paraíba, Brazil.
E-mail address: suellen.andrade@academico.ufpb.br (S. Andrade).

<https://doi.org/10.1016/j.brs.2023.01.1672>

1935-861X/© 2023 Published by Elsevier Inc. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. Introduction

Post-acute sequelae of Sars-CoV-2 infection (PASC) is an umbrella term for the wide range of multisystemic symptoms that are present four or more weeks after SARS-CoV-2 infection, independent of infection severity [1]. Fatigue is among the most reported PASC symptoms and has been associated with significant burden and disability [2]. The pathophysiological mechanisms of PASC remain poorly understood, but persistent immune activation has been regarded as a major player [3]. Currently, there are no established treatments for PASC and thus a large patient population seeking effective therapies [4].

Transcranial direct current stimulation (tDCS) is a type of noninvasive brain stimulation using low amplitude sustained currents [5]. High Definition tDCS (HD-tDCS) allows current steering to targeted brain regions [6–8]. tDCS is appealing as a non-pharmacological intervention and has been proposed for both COVID-19 acute illness and PASC-related conditions [9,10]. tDCS has been shown to reduce fatigue in a range of neurologic and immune diseases [11–13] and recently proposed as a therapeutic strategy for PASC-related fatigue [14–17].

Preliminary findings have demonstrated that PASC patients with fatigue exhibit abnormal motor cortex neurophysiological excitability. In these patients, inadequate input from brain regions upstream of M1 and/or reduced excitability of motor cortex could cause inadequate descending drive to the α -motor neurons thus contributing to the central fatigue [18,19]. Brain imaging and neurophysiology studies have indicated M1 is strongly involved in fatigue control [20,21] and prior studies revealed that changes in cortical excitability after tDCS were significantly correlated with fatigue improvement [22,23].

Given the need to develop effective strategies against PASC-related fatigue and the emerging role of tDCS in the treatment of fatigue, we developed this trial. The main objective of this randomized, sham-controlled trial was to evaluate the efficacy of M1 HD-tDCS associated with rehabilitation in PASC patients with fatigue. We postulated that, compared to sham stimulation, active stimulation during rehabilitation would improve fatigue (primary outcome), related symptoms (anxiety and pain) improving quality of life of patients with PASC.

2. Methods

2.1. Study design

This was a prospective, double-blind, randomized, sham-controlled clinical trial (NCT05289115) approved by the National Health Service Research Ethics Committee and conducted according to the Declaration of Helsinki. All patients enrolled provided written informed consent. Every patient received two sessions/week over five weeks (10 sessions).

2.2. Participants

Seventy patients fulfilling the criteria were enrolled. Eligible participants were aged 18–80 years, had diagnosis of PASC-related fatigue, and were followed in an outpatient clinic. Participants were required to be three to 12 months after acute confirmed SARS-CoV-2 infection, according to the CDC criteria [24]. The diagnosis of post-infectious fatigue following COVID-19 was performed according to the Academy of Physical Medicine and Rehabilitation recommendations [25]. Patients were screened for fatigue patterns to help guide activity and monitor the response to initiating and escalating activity as well as monitor the effects on daily functioning. Additionally, we compare their current symptoms with their pre illness

functional status and use standardized functional assessment tools to monitor the patient's progress over time. As part of the evaluation, we also determine whether the patient has any conditions that may exacerbate or lead to fatigue, including system dysfunctions, sleep disorders and medication use/polypharmacy [26].

Potential participants were excluded if they had severe depression (a score >30 in the Beck Depression inventory) [27]; history of alcohol abuse or substance harmful use or dependence; severe/life-threatening medical conditions and concomitant neuropsychiatric disorders such traumatic brain injury, stroke, epilepsy; and specific contraindications for brain stimulation (e.g., implanted metallic devices in the brain).

2.3. Randomization, allocation and blinding

Participants are randomized in accordance with a computer generated list at www.random.org (1:1 ratio) to receive active or sham HD-tDCS. After the randomization process, a blind researcher (not involved with the recruitment, data collection, or intervention) conducted the allocation of participants between the groups. Treatment assignments were concealed from patients and the personnel applying the stimulation sessions were blinded to the treatment group. Raters were also blinded to allocation group status.

2.4. Intervention

The experimental procedures and experimental profiles are shown in Fig. 1. We employed a 4×1 HD tDCS montage (mini-CT with 4×1 adaptor, Soterix Medical, New York, NY, USA). Based on the past neurophysiological studies on disruptive functional changes in fatigue-related to PASC [18,19], we positioned the center electrode over the left motor cortex (M1). Four return electrodes were placed in a ~ 7.5 cm radius. In the sham condition, the device provided a 30-s ramp-up period to the full 3 mA, followed immediately by a 30-s ramp down. For those in the active group, the electrical current was delivered with a ramp-up time of 30 s, held at 3 mA for 30 min, and then ramped down over 30 s. Each set of five

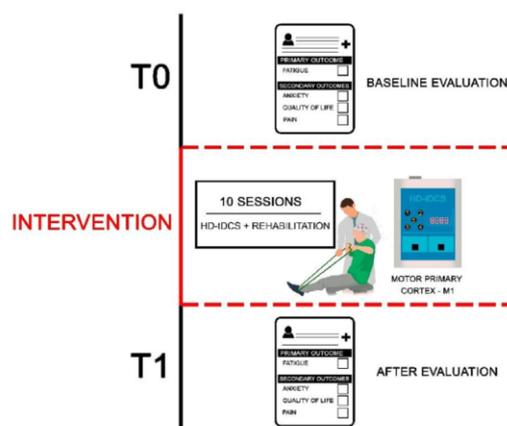


Fig. 1. Experimental design of HD-tDCS plus rehabilitation program for fatigue in Post-Acute Sequelae of SARS-CoV-2 (PASC). The treatment protocol was composed by 10 sessions of HD-tDCS associated to rehabilitation program. The primary and secondary outcomes were measured at the baseline (T0) and at the endpoint (T1). HD-tDCS = High-Definition transcranial Direct Current Stimulation.

electrodes was used for 10 sessions, rotating which electrode was in the center position [28,29] 4×1 HD-tDCS allows for both cortically targeted and sub-threshold (DC) modulation (PMID: 23149292) and is well tolerated and blinded under the conditions tested [28]. 30 min is a typical duration used in neuropsychiatric interventions [28,30] Our overall approach adapts our previously successful intervention in critically-ill COVID-19 patients [9].

During each session, all participants (active or sham) also received an individually tailored rehabilitation program based on the consensus guidance statement for treatment of PASC-related fatigue [25]. The protocol comprised submaximal levels (Rate of Perceived Exertion 9–11 score/Very Light-Light), gradual stretching, breathing exercise and resistance training. The Borg breathlessness scale and rate of perceived exertion were used alongside self-reported symptoms (including fatigue) to determine progression of the exercises [31]. All exercise training and counseling sessions were conducted by a physical therapist at the Department of Rehabilitation at University Medical Center. All patients underwent an educational program focused on treatment options for alleviating symptoms, taking account of the orientations and recommendations promoted by WHO on the education of health care providers and of patients. Therapeutic patient education is designed therefore to train patients in the skills of self-managing or adapting treatment to their particular condition, and in coping processes and skills. It is therefore a continuous process, integrated in health care. It is patient-centered; it includes awareness, learning, psychosocial support, prescribed treatment, organizational information, and behavior related to health and illness [32].

2.5. Outcomes

The primary efficacy outcome was fatigue severity as assessed by the Modified Fatigue Impact Scale (MFIS) [33] at the end of the treatment. The MFIS is a self-report inventory of fatigue severity that results in a total score and scores for three subscales: cognitive (9 items), psychosocial (10 items) and physical (2 items) components of fatigue.

Secondary outcomes included the evaluation of anxiety symptoms with the Hamilton Anxiety Rating Scale (HAM-A) [34], quality of life using WHOQOL-bref [35], and pain by the McGill Questionnaire [36]. Clinical response, as defined as 5-point reduction of the baseline MFIS score, according to the reliable change index was also determined. A change in 5–6 points represents statistically meaningful change at the 0.90 and 0.95 confidence interval [37]. To assess tolerability, we used a questionnaire based on previously reported adverse events [38].

2.6. Statistical analysis

The sample size was estimated based on a minimal clinically important difference (5-point reduction on MFIS score from the baseline) in the outcome of fatigue [37] and previous research by Mortezaejad et al. [12] that evaluated the effect of tDCS on fatigue (mean of 31.0 SD of 4.0). Considering an effect size of 0.80 and drop rate of 10%, a total sample size of 44 were required.

All data analyses were performed using the GraphPad Prism software version 8.0 for Mac (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). All tests were performed with a two tailed $p < .05$. Descriptive statistics were run as frequencies and percentages for categorical variables; means and standard deviations were calculated for the continuous variables.

Mean differences between groups with 95% confidence intervals (CI) and effect sizes were calculated for the primary and secondary outcomes. Adjustment for multiple comparisons was performed using Bonferroni correction. Chi-square tests were used to compare

the number of clinically improved patients between the active and sham group. The effect size was measured in terms of odds ratios, and we estimated the number needed to treat (NNT) based on the odds ratios for clinical response.

In addition, we constructed mixed linear models controlling for age and baseline measures (anxiety, depression, and sleep disorder), since these factors are related to fatigue. We used the Hamilton Anxiety Rating Scale [34] and the Beck Depression Inventory [39] to assess anxiety and depression, respectively. Sleep quality was assessed with the Sleep Quality Scale [40]. Adverse events are expressed as counts and percentages and compared between groups using the χ^2 test.

3. Results

3.1. Participants

Out of 226 patients who were initially assessed for eligibility, 156 were excluded (135 did not meet eligibility criteria and 21 withdrew consent) (Fig. 2). The demographic characteristics and clinical variables were similar between groups at baseline (Table 1).

3.2. Primary outcome

The active HD-tDCS group had significantly greater reduction in fatigue (mean group difference 14.03 points; effect size 1.2; 95% CI 7.78–20.28; $P < .001$) compared to the sham group at the end of the five-week intervention. MFIS subscale analyses found that the reduction in fatigue was found in both the cognitive (mean group difference 8.29 points; effect size 1.1; 95% CI 3.56–13.01; $P < .001$) and psychosocial subscales (mean group difference 2.37 points; effect size 1.2; 95% CI 1.34–3.40; $P < .001$). No difference was observed between groups on physical fatigue (mean group difference 0.71 points; effect size 0.1; 95% CI 4.47–5.90; $P = .09$) (Table 2) (Fig. 3).

3.3. Secondary outcomes

The secondary outcomes were anxiety (HAM-A scores), quality of life (WHOQOL-bref scores) and pain (McGill scores). The mean differences favored the active group for anxiety (mean group difference 4.88; effect size 0.9; 95% CI 1.93–7.84; $P < .001$) and quality of life (mean group difference 14.80; effect size 0.7; 95% CI 7.87–21.73; $P < .001$) compared to sham group. For pain, there was no significant difference between groups (mean group difference -0.74 ; no effect size; 95% CI 3.66–5.14; $P = .09$) (Fig. 4).

Results indicated that the proportion of clinically improved participants in the active group was significantly larger than in the sham group (77.14% vs 45.71%; NNT = 3; odds ratio = 0.24; 95% CI, 0.08–0.70; $P < .001$).

3.4. Exploratory analysis

Our exploratory analysis showed that age, sleep disorder and depression were not predictors of response. Anxiety severity at baseline was associated with lower response ($P = .3$). A significant regression equation was found ($F(7,54) = 17.40$, $P < .001$), with an adjusted R^2 of 0.69 (Table 3).

3.5. Adverse effects

Skin redness was the only adverse event that differed significantly between groups: there were 37 occurrences in the active group compared to 13 in the sham group ($P < .001$). No serious adverse events were reported.

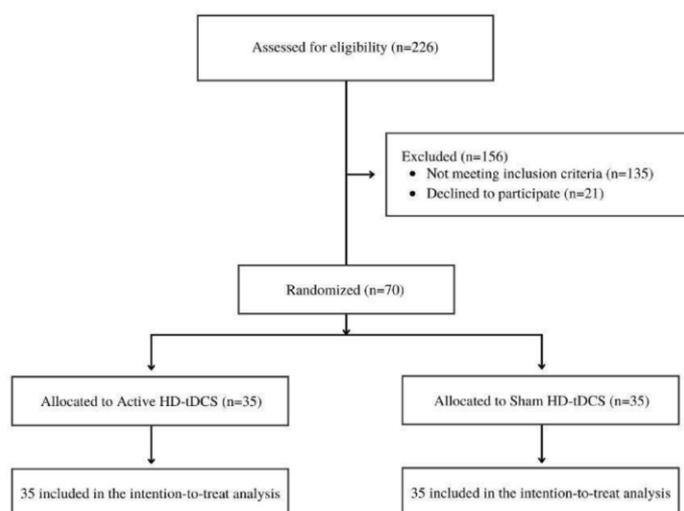


Fig. 2. Screening, Randomization, and Follow-up of Patients in the HD-RECOVERY trial. HD-tDCS = High-Definition transcranial Direct Current Stimulation.

4. Discussion

This is the first randomized, double-blind, sham-controlled clinical trial assessing the efficacy of HD-tDCS for the treatment of PASC-related fatigue. Consistent with the larger HD-tDCS (with rehabilitation) literature, the intervention is well-tolerated [41,42]. We found that active vs. sham HD-tDCS sessions combined with the rehabilitation program resulted in significant fatigue reduction

after the five-week intervention. Our results are encouraging because combining rehabilitation with HD-tDCS is feasible, well-tolerated and a potential useful treatment to many patients with fatigue.

There are several candidate mechanisms for tDCS benefit in fatigue. Previous reports documented that tDCS can induce neuroplastic after-effects and may exert a ‘top-down’ influence including along the ascending midbrain-thalamic-cingulate

Table 1
Demographics and clinical characteristics of participants in baseline.

	Group		P value
	Active (n = 35)	Sham (n = 35)	
Age ^a , years	51.63 [15.87]	54.46 [19.01]	0.50
Women, No. [%]	24 [69]	21 [60]	0.45
Comorbidities, No. [%]			
Hypertension	5 [14]	7 [20]	0.45
Chronic heart disease	3 [9]	2 [5]	0.64
Pulmonary disease	4 [11]	0 [0]	0.04
Diabetes	6 [17]	4 [11]	0.49
Rheumatic disease	3 [9]	2 [6]	0.64
Acute Phase Characteristics, No. [%]			
Asymptomatic	3 [9]	3 [9]	1.http://0.0.0.0/00 ^c
Home-isolated with symptoms	25 [71]	26 [74]	0.79 ^c
Hospitalized needing O2	2 [6]	3 [9]	0.64 ^c
Hospitalized needing NIV	4 [11]	2 [6]	0.39 ^c
Hospitalized needing respirator	3 [9]	4 [11]	0.69 ^c
Length of hospital stay ^a	2.86 [8.14]	3.34 [11.32]	0.84 ^b
Long COVID Symptoms, No. [%]			
Headache	12 [34]	9 [26]	0.43 ^c
Weakness	19 [54]	16 [46]	0.47 ^c
Sleep difficulty	15 [43]	12 [34]	0.46 ^c
Cough	22 [63]	15 [43]	0.09 ^c
Gastrointestinal symptoms	14 [40]	11 [31]	0.45 ^c
Breathlessness	14 [40]	17 [49]	0.47 ^c

No. or n = number of participants; NIV: Non-Invasive Ventilation.

^a Continuous variables are presented as mean (SD) unless otherwise indicated.

^b Chi-square analysis.

^c Independent t-test analysis.

Table 2
Clinical outcomes.

Variables	Group		ANOVA [F(1,68)]/P value]		
	Active (n = 35)	Sham (n = 35)	Acute treatment period		
			Active vs Sham	Time effects	Time × group interaction
<i>Primary Outcome^a</i>					
<i>MFIS-Cognitive</i>					
Baseline	31.60 [9.10]	33.66 [8.27]			
Week 5	17.14 [8.7]	26.46 [7.56]	7.82/0.0067 ^b	115.8/0.0001	10.56/0.0018
<i>MFIS-Psychosocial</i>					
Baseline	6.54 [2.05]	5.91 [1.67]			
Week 5	2.66 [2.14]	5.03 [1.67]	26.58/0.0237 ^b	199.2/0.001	78.75/0.001
<i>MFIS-Physical</i>					
Baseline	19.03 [10.97]	18.23 [9.66]			
Week 5	15.26 [8.70]	15.97 [8.61]	0.000/0.985	28.93/0.001	1.82/0.181
<i>MFIS total</i>					
Baseline	57.17 [14.95]	57.8 [7.91]			
Week 5	35.06 [12.22]	47.46 [8.48]	9.69/0.0027 ^b	140.8/0.001	21.76/0.001
<i>Secondary Outcomes^a</i>					
<i>McGill Questionnaire</i>					
Baseline	11.8 [11.39]	10.94 [9.03]			
Week 5	7.46 [6.04]	8.49 [5.95]	0.06/0.801	6.46/0.013	0.11/0.740
<i>HAM-A</i>					
Baseline	25.93 [5.98]	25.95 [4.75]			
Week 5	18.66 [5.84]	23.57 [5.19]	4.55/0.036 ^b	60.74/0.0001	15.37/0.0002
<i>WHOQoL-bref</i>					
Baseline	57.51 [12.60]	59.71 [13.32]			
Week 5	80.89 [12.10]	66.09 [13.24]	5.49/0.022 ^b	101.9/0.0001	33.28/0.0001

^a Continuous variables are presented as mean (SD).

^b Statistically significant n = number of participants; MFIS = Modified Fatigue Impact Scale; HAM-A = Hamilton anxiety rating scale; WHOQoL-brief = World Health Organization quality of life questionnaire (brief version).

pathway through descending fibers from the motor cortex [43–45]. The therapeutic efficacy of tDCS is, at least partly, due to its capacity to induce neural plasticity in different clinical conditions [45–47]. Additionally, M1 stimulation has been used for treating fatigue [22,48], decreasing the threshold for perceived effort [23] and

performance fatigability [15]. The suggested modulation of inflammatory processes by tDCS, either by direct brain stimulation [49,50] or top-down (vagal) processes, may be a parallel therapeutic mechanism [17,22]. As a further explanation of our study outcomes, rehabilitation programs are known to decrease

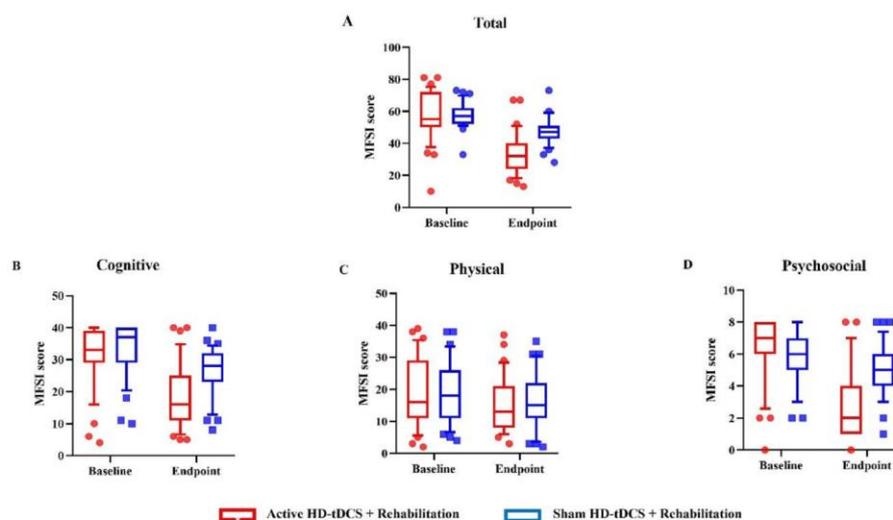


Fig. 3. Primary fatigue Outcomes of HD-tDCS plus rehabilitation program in Post-Acute Sequelae of SARS-CoV-2 (PASC). Boxplots presenting changes in fatigue severity, (A) and regarding to cognitive, (B) psychosocial, (C) and physical fatigue domains, (D) from baseline to endpoint (week 5). A MFIS score reduction represents decrease fatigue severity after treatment. The HD-tDCS plus rehabilitation program on fatigue ratings were greater for the active group than for the sham group (fatigue total, cognitive and psychosocial domains). No significant effect was observed for physical fatigue between the two groups. MFIS = Modified Fatigue Impact Scale; HD-tDCS = High-Definition transcranial Direct Current Stimulation.

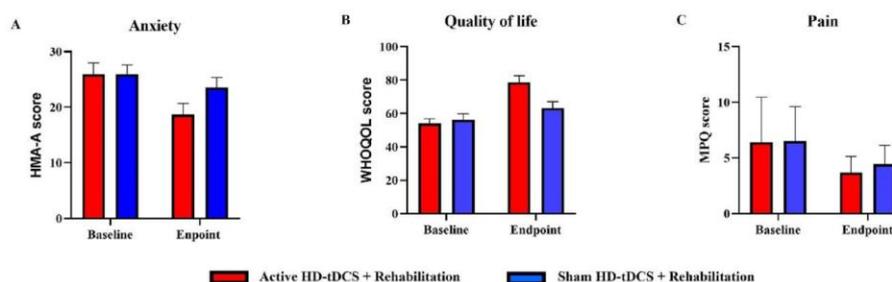


Fig. 4. Secondary Outcomes. Panels showing changes in anxiety severity, A, quality of life, B and pain level, C from baseline to endpoint (week 5). Compared with sham group, the effect of attenuating anxiety symptoms and improve quality of life ratings were marginally greater for the active group. There was no statistically significant difference between the treatment groups in pain change. HAM-A = Hamilton anxiety rating scale; WHOQOL-brief = World Health Organization quality of life questionnaire (brief version); MPQ = McGill Pain Questionnaire HD-tDCS = High-definition transcranial direct current stimulation.

sensation of fatigue accompanied by brain functional reorganization in the sensory-motor network [49–51] and tDCS enhances sensorimotor activities and plasticity [52,53].

Our effort build on decades of work indicating the potential for tDCS for range of neurological and psychiatric conditions [28,54–58] with symptoms relevant to PASC. Trials of 4×1 HD-tDCS has spanned cognitive dysfunction [59] and neuropsychiatric disorders [60,61], pain [62,63], motor learning [64], and exercise performance [65].

Adjuvant treatments to improve the effects of rehabilitation are challenging, mainly due to the heterogeneity and complexity of fatigue-related to PASC conditions. Therefore, the results of this trial may result in an important advance in the healthcare setting. HD-tDCS associated with the rehabilitation protocol is feasible to a real clinical scenario, since the protocol allows brain stimulation during rehabilitation procedures, without increasing the human resource costs (physiotherapy time). Taken together, HD-tDCS and rehabilitation improves the chances of recovery, offer incentives to treatment compliance and may have an impact on public health costs.

Improvements of anxiety and quality of life, but not pain, were also observed with active HD-tDCS. Anxiety is reported to be associated with fatigue on a broad range of clinical conditions [66,67]. Since frontal and central areas are dysfunctional after COVID-19 infection [68,69], modulation of motor targets could lead not only to changes in fatigue but also in anxiety. The effects of HD-tDCS indeed affect distinct cortical and subcortical circuits, which could influence both motor and cognitive areas [43,46]. Further studies are necessary to investigate whether changes in anxiety occur simultaneously to fatigue or if improvements in cognitive symptoms mediates PASC outcomes. There is evidence showing the relationship between PASC-related fatigue and quality of life

[70,71]. In other clinical conditions, such as multiple sclerosis, for instance, the increase in neuronal activity following demyelination of some neurons, leads to deterioration of physical abilities, inducing fatigue and subsequently decreasing quality of life [12,71]. Therefore, the improvement of quality of life effect may be secondary to the effect of HD-tDCS on fatigue. Because patients had lower pain scores at baseline their scores might have not improved after treatment (despite a sustained response) owing to a “ceiling effect”. Finally, given that both groups improved their fatigue, the rehabilitation program might have an effect that was augmented by the HD-tDCS, as suggested by previous studies [47,72,73].

Study limitations and opportunities should be underscored. First, acute phase parameters of COVID-19 and premorbid conditions are factors non controlled during the current study. Second, absence of MRI precludes computational models of the role of individual anatomy in brain electric field intensity, however use of 4×1 HD-tDCS ensures consistent spatial targeting across subjects [74,75]. Third, PASC is a multifactorial condition suggesting customized treatment strategies - to this end our inclusion of subjects with specific symptom profiles and application of indication-targeted HD-tDCS and rehabilitation is consistent with developing socialized interventions. Finally, notwithstanding high compliance in our ten protocol sessions, due the barriers associated with consecutive visits to clinic/hospital and considering the large number of people affected by PASC remotely supervised home-based tDCS can be considered (and is feasible) to investigate extended treatment protocols [17,76–78].

5. Conclusion

In this sham-controlled randomized trial, we found that 10 sessions of M1 HD-tDCS paired with a rehabilitation program led to significant reduction of PASC-related fatigue. Although strengths of our study are the relatively large sample size and also its pragmatic aspect, enrolling fatigued patients that present mixed symptoms, further studies should acknowledge the specifically effects of treatment on patients with higher pain level and physical impairment related to fatigue to consolidate these exploratory findings. These findings along with the low cost of the therapy and its tolerability suggests its potential application in the clinical practice for the treatment of PASC.

Funding

This trial was funded and supported by the Government of Paraíba (Brazil).

Table 3
Multiple linear regression results with the change in MFIS as the outcome variable.

	Beta coefficient	95% CI	P value
Intercept	58.84	45.32 to 72.37	<0.0001 ^a
Group	-14.22	-17.96 to -10.49	<0.0001 ^a
Age	-0.08	-0.23 to 0.07	0.29
Sleep difficulty	-0.01	-0.54 to 0.51	0.96
Depression	-0.26	-0.62 to 0.10	0.15
Anxiety	-0.46	-0.89 to -0.03	0.04 ^a

Table includes beta coefficients, 95% confidence intervals and the associated p values for each predictor.

CI confidence interval.

MFIS = Modified Fatigue Impact Scale.

^a Statistically significant.

CRediT authorship contribution statement

Kelly Santana: Conceptualization, Methodology, Validation, Formal analysis, Data curation, Writing – original draft. **Eduardo França:** Conceptualization, Methodology, Supervision, Writing – review & editing. **João Sato:** Conceptualization, Methodology, Supervision, Writing – review & editing. **Ana Silva:** Investigation, Writing – review & editing. **Maria Queiroz:** Investigation, Writing – review & editing. **Julia de Farias:** Investigation, Writing – review & editing. **Danniely Rodrigues:** Investigation, Writing – review & editing. **Iara Souza:** Investigation, Writing – review & editing. **Vanessa Ribeiro:** Conceptualization, Methodology, Resources, Writing – review & editing. **Egas Caparelli-Daquer:** Conceptualization, Methodology, Supervision, Writing – review & editing. **Antonio L. Teixeira:** Conceptualization, Methodology, Supervision, Writing – review & editing. **Leigh Charvet:** Conceptualization, Methodology, Supervision, Writing – review & editing. **Abhishek Datta:** Designed the experiment. **Marom Bikson:** Conceptualization, Methodology, Validation, Formal analysis, Data curation, Supervision, Project administration, Writing – original draft. **Suellen Andrade:** Conceptualization, Methodology, Validation, Formal analysis, Data curation, Supervision, Project administration, Writing – original draft.

Declaration of competing interest

The authors declare the following financial interests/personal relationships which may be considered as potential competing interests: The City University of New York holds patents on brain stimulation with MB as inventor. MB has equity in Soterix Medical Inc. MB consults, received grants, assigned inventions, and/or serves on the SAB of SafeTaddles, Boston Scientific, GlaxoSmithKline, Biophysics, Mecta, Lumenis, Halo Neuroscience, Google-X, i-Lumen, Humm, Allergan (Abbvie), Apple. AD is an employee and has equity in Soterix Medical Inc.

References

- Parker AM, Brigham E, Connolly B, McPeake J, Agranovich AV, Kenes MT, et al. Addressing the post-acute sequelae of SARS-CoV-2 infection: a multidisciplinary model of care. *Lancet Respir Med* 2021;9:1328–41. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(21\)00385-4](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(21)00385-4).
- Logue JK, Franko NM, McCulloch DJ, McDonald D, Magedson A, Wolf CR, et al. Sequelae in adults at 6 Months after COVID-19 infection. *JAMA Netw Open* 2021;4:e210830. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2021.0830>.
- Maltezou HC, Pavli A, Tsakris A. Post-COVID syndrome: an insight on its pathogenesis. *Vaccines* 2021;9:497. <https://doi.org/10.3390/vaccines9050497>.
- Brown K, Yahyouché A, Haroon S, Camaradou J, Turner G. Long COVID and self-management. *Lancet* 2022;399:355. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02798-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02798-7).
- Woods AJ, Antal A, Bikson M, Boggio PS, Brunoni AR, Celnik P, et al. A technical guide to tDCS, and related non-invasive brain stimulation tools. *Clin Neurophysiol* 2016;127:1031–48. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2015.11.012>.
- Villamar MF, Volz MS, Bikson M, Datta A, DaSilva AF, Fregni F. Technique and considerations in the use of 4x1 ring high-definition transcranial direct current stimulation (HD-tDCS). *JoVE* 2013;50309. <https://doi.org/10.3791/50309>.
- Datta A, Bansal V, Diaz J, Patel J, Reato D, Bikson M. Gyri-precise head model of transcranial direct current stimulation: improved spatial focality using a ring electrode versus conventional rectangular pad. *Brain Stimul* 2009;2. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2009.03.005>. 201–7, 207.e1.
- Dmochowski JP, Datta A, Bikson M, Su Y, Parra LC. Optimized multi-electrode stimulation increases focality and intensity at target. *J Neural Eng* 2011;8:046011. <https://doi.org/10.1088/1741-2560/8/4/046011>.
- Andrade SM, Cecília de Araújo Silvestre M, Tenório de França EÉ, Bezerra Sales Queiroz MH, de Jesus Santana K, Lima Holmes Madruga ML, et al. Efficacy and safety of HD-tDCS and respiratory rehabilitation for critically ill patients with COVID-19 the HD-RECOVERY randomized clinical trial. *Brain Stimul* 2022;15:780–8. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2022.05.006>.
- Czura CJ, Bikson M, Charvet L, Chen JDZ, Franke M, Fudim M, et al. Neuro-modulation strategies to reduce inflammation and improve lung complications in COVID-19 patients. *Front Neurol* 2022;13:897124. <https://doi.org/10.3389/fneur.2022.897124>.
- Lefaucheur J-P, Chalah MA, Mhalla A, Palm U, Ayache SS, Mylius V. The treatment of fatigue by non-invasive brain stimulation. *Neurophysiologie Clin/Clin Neurophys* 2017;47:173–84. <https://doi.org/10.1016/j.neucli.2017.03.003>.
- Mortezanejad M, Ehsani F, Masoudian N, Zoghi M, Jaberzadeh S. Comparing the effects of multi-session anodal trans-cranial direct current stimulation of primary motor and dorsolateral prefrontal cortices on fatigue and quality of life in patients with multiple sclerosis: a double-blind, randomized, sham-controlled trial. *Clin Rehabil* 2020;34:1103–11. <https://doi.org/10.1177/026915520921506>.
- Azabou E, Bao G, Bounab R, Heming N, Annane D. Vagus nerve stimulation: a potential adjunct therapy for COVID-19. *Front Med* 2021;8:625836. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.625836>.
- Tecchio F, Cancelli A, Cottone C, Zito G, Pasqualetti P, Ghazaryan A, et al. Multiple sclerosis fatigue relief by bilateral somatosensory cortex neuromodulation. *J Neurol* 2014;261:1552–8. <https://doi.org/10.1007/s00415-014-7377-9>.
- Workman C, Boles-Ponto L, Kamholz J, Bryant A, Rudroff T. Transcranial direct current stimulation and post-COVID-19-fatigue. *Brain Stimul* 2021;14:1672–3. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2021.10.268>.
- Baptista AF, Baltar A, Okano AH, Moreira A, Campos ACP, Fernandes AM, et al. Applications of non-invasive neuromodulation for the management of disorders related to COVID-19. *Front Neurol* 2020;11:573718. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.573718>.
- Pilloni G, Bikson M, Badran BW, George MS, Kautz SA, Okano AH, et al. Update on the use of transcranial electrical brain stimulation to manage acute and chronic COVID-19 symptoms. *Front Hum Neurosci* 2020;14:595567. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2020.595567>.
- Ortelli P, Ferrazzoli D, Sebastianelli L, Engl M, Romanello R, Nardone R, et al. Neuropsychological and neurophysiological correlates of fatigue in post-acute patients with neurological manifestations of COVID-19: insights into a challenging symptom. *J Neurol Sci* 2021;420:117271. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2020.117271>.
- Ortelli P, Ferrazzoli D, Sebastianelli L, Maestri R, Dezi S, Spampinato D, et al. Altered motor cortex physiology and dysexecutive syndrome in patients with fatigue and cognitive difficulties after mild COVID-19. *Eur J Neurol* 2022;29:1652–62. <https://doi.org/10.1111/ene.15278>.
- Jiang Y, Guo Z, McClure MA, He L, Mu Q. Effect of rTMS on Parkinson's cognitive function: a systematic review and meta-analysis. *BMC Neurol* 2020;20:377. <https://doi.org/10.1186/s12883-020-01953-4>.
- Di Lazzaro V, Oliviero A, Tonali PA, Mazzone P, Insola A, Pilato F, et al. Direct demonstration of reduction of the output of the human motor cortex induced by a fatiguing muscle contraction. *Exp Brain Res* 2003;149:535–8. <https://doi.org/10.1007/s00221-003-1408-6>.
- Ferrucci R, Vergari M, Cogiamanian F, Bocci T, Ciocca M, Tomasini E, et al. Transcranial direct current stimulation (tDCS) for fatigue in multiple sclerosis. *NRE* 2014;34:121–7. <https://doi.org/10.3233/NRE-131019>.
- De Doncker W, Ondobaka S, Kuppuswamy A. Effect of transcranial direct current stimulation on post-stroke fatigue. *J Neurol* 2021;268:2831–42. <https://doi.org/10.1007/s00415-021-10442-8>.
- <http://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/long-term-effects.html> n.d.
- Herrera JE, Niehaus WN, Whiteman J, Azola A, Baratta JM, Fleming TK, et al. Multidisciplinary collaborative consensus guidance statement on the assessment and treatment of fatigue in postacute sequelae of SARS-CoV-2 infection (PASC) patients. *PM&R* 2021;13:1027–43. <https://doi.org/10.1002/pmrj.12684>.
- Mikkelsen M, Abramoff B. COVID-19: evaluation and management of adults with persistent symptoms following acute illness. *Long COVID* 2022.
- Shahid A, Wilkinson K, Marcu S, Shapiro CM. Beck depression inventory. In: Shahid A, Wilkinson K, Marcu S, Shapiro CM, editors. STOP, THAT and one hundred other sleep scales. New York, NY: Springer New York; 2011. p. 63–4. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9893-4_8.
- Kuo M-F, Chen P-S, Nitsche MA. The application of tDCS for the treatment of psychiatric diseases. *Int Rev Psychiatr* 2017;29:146–67. <https://doi.org/10.1080/09540261.2017.1286299>.
- Kuo H-I, Bikson M, Datta A, Minhas P, Paulus W, Kuo M-F, et al. Comparing cortical plasticity induced by conventional and high-definition 4 × 1 ring tDCS: a neurophysiological study. *Brain Stimul* 2013;6:644–8. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2012.09.010>.
- Reckow J, Rahman-Filipiak A, Garcia S, Schlaeflin S, Calhoun O, DaSilva AF, et al. Tolerability and blinding of 4x1 high-definition transcranial direct current stimulation (HD-tDCS) at two and three milliamperes. *Brain Stimul* 2018;11:991–7. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2018.04.022>.
- Borg GA. Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc* 1982;14:377–81.
- Therapeutic patient education : continuing education programmes for health care providers in the field of prevention of chronic diseases : report of a WHO working group n.d.
- Fisk JD, Ritvo PG, Ross L, Haase DA, Marrie TJ, Schlech WF. Measuring the functional impact of fatigue: initial validation of the fatigue impact scale. *Clin Infect Dis* 1994;18:S79–83. https://doi.org/10.1093/clinids/18.Supplement_1.S79.
- Maier W, Buller R, Philipp M, Heuser I. The Hamilton Anxiety Scale: reliability, validity and sensitivity to change in anxiety and depressive disorders. *J Affect Disord* 1988;14:61–8. [https://doi.org/10.1016/0165-0327\(88\)90072-9](https://doi.org/10.1016/0165-0327(88)90072-9).

- [35] The Whoqol Group. Development of the world health organization WHOQOL-BREF quality of life assessment. *Psychol Med* 1998;28:551–8. <https://doi.org/10.1017/S0033291798006667>.
- [36] Melzack R. The McGill Pain Questionnaire: major properties and scoring methods. *Pain* 1975;1:277–99. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(75\)90044-5](https://doi.org/10.1016/0304-3959(75)90044-5).
- [37] Cozart JS, Strober L, Ruppen S, Bradish T, Belcher C, Louthan T, et al. A quick assessment of reliable change in fatigue: reliable change indices of the modified fatigue impact scale – 5 item (MFIS-5). *Multiple Sclerosis Related Disord* 2021;49:102743. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2021.102743>.
- [38] Brunoni AR, Amadera J, Berbel B, Volz MS, Rizzerio BG, Fregni F. A systematic review on reporting and assessment of adverse effects associated with transcranial direct current stimulation. *Int J Neuropsychopharmacol* 2011;14:1133–45. <https://doi.org/10.1017/S1461145710001690>.
- [39] Beck AT. An inventory for measuring depression. *Arch Gen Psychiatr* 1961;4:561. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.1961.01710120031004>.
- [40] Mulder-Hajonides van der Meulen W, Wijnberg J, Hollander J, et al. Measurement of subjective sleep quality. *Eur. Sleep Res. Soc.* 1980;5:98.
- [41] Richardson J, Datta A, Dmochowski J, Parra LC, Fridriksson J. Feasibility of using high-definition transcranial direct current stimulation (HD-tDCS) to enhance treatment outcomes in persons with aphasia. *NeuroRehabilitation* 2015;36:115–26. <https://doi.org/10.3233/NRE-141199>.
- [42] Jacquemin L, Shekhawat GS, Van de Heyning P, Mertens G, Fransen E, Van Rompaey V, et al. Effects of electrical stimulation in tinnitus patients: conventional versus high-definition tDCS. *Neurorehabilitation Neural Repair* 2018;32:714–23. <https://doi.org/10.1177/1545968318787916>.
- [43] Keeser D, Meindl T, Bor J, Palm U, Pogarell O, Mulert C, et al. Prefrontal transcranial direct current stimulation changes connectivity of resting-state networks during fMRI. *J Neurosci* 2011;31:15284–93. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0542-11.2011>.
- [44] Nitsche MA, Fricke K, Henschke U, Schlitterlau A, Liebetanz D, Lang N, et al. Pharmacological modulation of cortical excitability shifts induced by transcranial direct current stimulation in humans. *J Physiol* 2003;553:293–301. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.049916>.
- [45] Hordacre B, Moezzi B, Ridding MC. Neuroplasticity and network connectivity of the motor cortex following stroke: a transcranial direct current stimulation study. *Hum Brain Mapp* 2018;39:3326–39. <https://doi.org/10.1002/hbm.24079>.
- [46] Park C, Chang WH, Park J-Y, Shin Y-I, Kim ST, Kim Y-H. Transcranial direct current stimulation increases resting state interhemispheric connectivity. *Neurosci Lett* 2013;539:7. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2013.01.047>.
- [47] Andrade SM, Ferreira JJ de A, Rufino TS, Medeiros G, Brito JD, da Silva MA, et al. Effects of different montages of transcranial direct current stimulation on the risk of falls and lower limb function after stroke. *Neurol Res* 2017;39:1037–43. <https://doi.org/10.1080/01616412.2017.1371473>.
- [48] Pilloni G, Choi C, Shaw M, et al. Transcranial direct current stimulation (tDCS) can reduce fatigue and improve sleep quality in multiple sclerosis. *Neurology* Apr 2020;94(15):3961. 3961.
- [49] Tavazzi L, Gattone M, Corra U, De Vito F. The anaerobic index: uses and limitations in the assessment of heart failure. *Cardiology* 1989;76:357–67.
- [50] Prosperini L, Piattella MC, Gianni C, Pantano P. Functional and structural brain plasticity enhanced by motor and cognitive rehabilitation in multiple sclerosis. *Neural Plast* 2015;1–12. <https://doi.org/10.1155/2015/481574>.
- [51] Foong R, Ang KK, Quek C, Guan C, Phua KS, Kuah CWK, et al. Assessment of the efficacy of EEG-based MI-BCI with visual feedback and EEG correlates of mental fatigue for upper-limb stroke rehabilitation. *IEEE Trans Biomed Eng* 2020;67:786–95. <https://doi.org/10.1109/TBME.2019.2921198>.
- [52] Hong X, Lu ZK, Teh I, Nasrallah FA, Teo WP, Ang KK, et al. Brain plasticity following MI-BCI training combined with tDCS in a randomized trial in chronic subcortical stroke subjects: a preliminary study. *Sci Rep* 2017;7:9222. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08928-5>.
- [53] Andrade SM, Machado DG da S, Silva-Sauer L da, Regis CT, Mendes CKT, de Araújo JSS, et al. Effects of multisite anodal transcranial direct current stimulation combined with cognitive stimulation in patients with Alzheimer's disease and its neurophysiological correlates: a double-blind randomized clinical trial. *Neurophysiol Clin* 2022;52:117–27. <https://doi.org/10.1016/j.neucli.2022.02.003>.
- [54] Fregni F, El-Hagrassy MM, Pacheco-Barrios K, Carvalho S, Leite J, Simis M, et al. Evidence-based guidelines and secondary meta-analysis for the use of transcranial direct current stimulation in neurological and psychiatric disorders. *Int J Neuropsychopharmacol* 2021;24:256–313. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyaa051>.
- [55] Brunoni AR, Moffa AH, Sampaio-Junior B, Borriero L, Moreno ML, Fernandes RA, et al. Trial of electrical direct-current therapy versus escitalopram for depression. *N Engl J Med* 2017;376:2523–33. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1612999>.
- [56] Antal A, Alekseičuk I, Bikson M, Brockmüller J, Brunoni AR, Chen R, et al. Low intensity transcranial electric stimulation: safety, ethical, legal regulatory and application guidelines. *Clin Neurophysiol* 2017;128:1774–809. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2017.06.001>.
- [57] Fregni F, Nitsche MA, Loo CK, Brunoni AR, Marangolo P, Leite J, et al. Regulatory considerations for the clinical and research use of transcranial direct current stimulation (tDCS): review and recommendations from an expert panel. *Clin Res Regul Aff* 2015;32:22–35. <https://doi.org/10.3109/10601333.2015.980944>.
- [58] Brunoni AR, Nitsche MA, Bolognini N, Bikson M, Wagner T, Merabet L, et al. Clinical research with transcranial direct current stimulation (tDCS): challenges and future directions. *Brain Stimul* 2012;5:175–95. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2011.03.002>.
- [59] Tedla JS, Sangadala DR, Reddy RS, Gular K, Dixit S. High-definition transcranial direct current stimulation and its effects on cognitive function: a systematic review. *Cerebr Cortex* 2022;bhac485. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhac485>.
- [60] Masina F, Arcara G, Galletti E, Cinque I, Gamberini L, Mapelli D. Neurophysiological and behavioural effects of conventional and high definition tDCS. *Sci Rep* 2021;11:7659. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-87371-z>.
- [61] Parlikar R, Vanteemar SS, Shivakumar V, Narayanaswamy CJ, Rao PN, Ganesan V. High definition transcranial direct current stimulation (HD-tDCS): a systematic review on the treatment of neuropsychiatric disorders. *Asian Journal of Psychiatry* 2021;56:102542. <https://doi.org/10.1016/j.aip.2020.102542>.
- [62] Castillo-Saavedra L, Gebodh N, Bikson M, Diaz-Cruz C, Brandao R, Coutinho L, et al. Clinically effective treatment of fibromyalgia pain with high-definition transcranial direct current stimulation: phase II open-label dose optimization. *J Pain* 2016;17:14–26. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2015.09.009>.
- [63] Flood A, Waddington G, Keegan RJ, Thompson KG, Cathcart S. The effects of elevated pain inhibition on endurance exercise performance. *PeerJ* 2017;5:e3028. <https://doi.org/10.7717/peerj.3028>.
- [64] Cole L, Giuffrè A, Ciechanski P, Carlson HL, Zewdie E, Kuo H-C, et al. Effects of high-definition and conventional transcranial direct-current stimulation on motor learning in children. *Front Neurosci* 2018;12:787. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00787>.
- [65] da Silva Machado DG, Bikson M, Datta A, Caparelli-Daqueer E, Unal G, Baptista AF, et al. Acute effect of high-definition and conventional tDCS on exercise performance and psychophysiological responses in endurance athletes: a randomized controlled trial. *Sci Rep* 2021;11:13911. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92670-6>.
- [66] Goërtz YM, Braamse AMJ, Spruit MA, Janssen DJA, Ebadi Z, Van Herck M, et al. Fatigue in patients with chronic disease: results from the population-based Lifelines Cohort Study. *Sci Rep* 2021;11:20977. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00337-z>.
- [67] AlSaeed S, AlJouee T, Alkhawajah NM, Alarieh R, AlGarni H, Aljarallah S, et al. Fatigue, depression, and anxiety among ambulating multiple sclerosis patients. *Front Immunol* 2022;13:844461. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.844461>.
- [68] Douaou G, Lee S, Alfaro-Almagro F, Arthofer C, Wang C, McCarthy P, et al. SARS-CoV-2 is associated with changes in brain structure in UK Biobank n.d.: vol. 55.
- [69] Silva LS, Joao RB, Nogueira MH, Aventurauro IK, de Campos BM, de Brito MR, et al. Functional and microstructural brain abnormalities, fatigue, and cognitive dysfunction after mild COVID-19. *Neurology* 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.03.20.21253414>.
- [70] Malik P, Patel K, Pinto C, Jaiswal R, Tirupathi R, Pillai S, et al. Post-acute COVID-19 syndrome (PCS) and health-related quality of life (HRQoL)—a systematic review and meta-analysis. *J Med Virol* 2022;94:253–62. <https://doi.org/10.1002/jmv.27309>.
- [71] Turpin KVL, Carroll LJ, Cassidy JD, Hader WJ. Deterioration in the health-related quality of life of persons with multiple sclerosis: the possible warning signs. *Mult Scler* 2007;13:1038–45. <https://doi.org/10.1177/1352458507078393>.
- [72] Manenti R, Cotelli MS, Cobelli C, Gobbi E, Brambilla M, Rusich D, et al. Transcranial direct current stimulation combined with cognitive training for the treatment of Parkinson Disease: a randomized, placebo-controlled study. *Brain Stimul* 2018;11:1251–62. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2018.07.046>.
- [73] Schabrun SM, Lamont RM, Brauer SG. Transcranial direct current stimulation to enhance dual-task gait training in Parkinson's disease: a pilot RCT. *PLoS One* 2016;11:e0158497. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158497>.
- [74] Datta A, Truong D, Minhas P, Parra LC, Bikson M. Inter-individual variation during transcranial direct current stimulation and normalization of dose using MRI-derived computational models. *Front Psychiatr* 2012;3:91. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2012.00091>.
- [75] Edwards D, Cortes M, Datta A, Minhas P, Wassermann EM, Bikson M. Physiological and modeling evidence for focal transcranial electrical brain stimulation in humans: a basis for high-definition tDCS. *Neuroimage* 2013;74:266–75. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2013.01.042>.
- [76] Palm U, Kumpf U, Behler N, Wulf L, Kirsch B, Wörtsching J, et al. Home use, remotely supervised, and remotely controlled transcranial direct current stimulation: a systematic review of the available evidence. *NeuroModulation: Technol at the Neural Interface* 2018;21:323–33. <https://doi.org/10.1111/ner.12686>.
- [77] Pilloni G, Vogel-Eyny A, Lustberg M, Best P, Malik M, Walton-Masters L, et al. Tolerability and feasibility of at-home remotely supervised transcranial direct current stimulation (RS-tDCS): single-center evidence from 6,779 sessions. *Brain Stimul* 2022;15:707–16. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2022.04.014>.
- [78] Tecchio F, Cancelli A, Pizzichino A, L'Abbate T, Gianni E, Bertoli M, et al. Home treatment against fatigue in multiple sclerosis by a personalized, bilateral whole-body somatosensory cortex stimulation. *Mult Scler Relat Disord* 2022;63:103813. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2022.103813>.



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Brain Stimulation

journal homepage: <http://www.journals.elsevier.com/brain-stimulation>

Efficacy and safety of HD-tDCS and respiratory rehabilitation for critically ill patients with COVID-19 The HD-RECOVERY randomized clinical trial



Suellen Marinho Andrade ^{a,*}, Maria Cecília de Araújo Silvestre ^a, Eduardo Ériko Tenório de França ^b, Maria Heloísa Bezerra Sales Queiroz ^a, Kelly de Jesus Santana ^a, Marcela Lais Lima Holmes Madruga ^a, Cristina Katya Torres Teixeira Mendes ^a, Eliane Araújo de Oliveira ^a, João Felipe Bezerra ^a, Renata Gomes Barreto ^a, Silmara Maria Alves Fernandes da Silva ^a, Thais Alves de Sousa ^a, Wendy Chrystyan Medeiros de Sousa ^a, Mariana Patrícia da Silva ^a, Vanessa Meira Cintra Ribeiro ^b, Paulo Lucena ^b, Daniel Beltrammi ^b, Rodrigo Ramos Catharino ^c, Egas Caparelli-Dáquer ^d, Benjamin M. Hampstead ^e, Abhishek Datta ^f, Antonio Lucio Teixeira ^g, Bernardino Fernández-Calvo ^{h,i}, João Ricardo Sato ^j, Marom Bikson ^f

^a Federal University of Paraíba, João Pessoa, Brazil

^b Health Secretary, Government of Paraíba, João Pessoa, Brazil

^c Thomson Mass Spectrometry Laboratory, Institute of Chemistry, State University of Campinas, UNICAMP, Campinas, SP, Brazil

^d Nervous System Electric Stimulation Lab, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Brazil

^e Research Program on Cognition and Neuromodulation Based Interventions, Department of Psychiatry, University of Michigan & Mental Health Service, VA Ann Arbor Healthcare System, Ann Arbor, Ann Arbor, United States

^f Department of Biomedical Engineering, The City College of New York of CUNY, New York, United States

^g Department of Psychiatry and Behavioral Sciences, McGovern Medical School, University of Texas Health Science Center, Houston, United States

^h Department of Psychology, University of Cordoba, Cordoba, Spain

ⁱ Maimonides Biomedical Research Institute of Cordoba (IMIBIC), University of Cordoba, Cordoba, Spain

^j Center of Mathematics, Computing and Cognition, Federal University of ABC, Santo André, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 9 March 2022

Received in revised form

19 April 2022

Accepted 5 May 2022

Available online 11 May 2022

Keywords:

High-definition transcranial direct current stimulation

Noninvasive brain stimulation

Coronavirus disease

Acute respiratory distress syndrome

Respiratory rehabilitation

ABSTRACT

Background and purpose: Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) due to coronavirus disease 2019 (COVID-19) has been associated with muscle fatigue, corticospinal pathways dysfunction, and mortality. High-Definition transcranial Direct Current Stimulation (HD-tDCS) may be used to attenuate clinical impairment in these patients. The HD-RECOVERY randomized clinical trial was conducted to evaluate the efficacy and safety of HD-tDCS with respiratory rehabilitation in patients with moderate to severe ARDS due to COVID-19.

Methods: Fifty-six critically ill patients were randomized 1:1 to active (n = 28) or sham (n = 28) HD-tDCS (twice a day, 30-min, 3-mA) plus respiratory rehabilitation for up to 10 days or until intensive care unit discharge. The primary outcome was ventilator-free days during the first 28 days, defined as the number of days free from mechanical ventilation. Furthermore, secondary outcomes such as delirium, organ failure, hospital length of stay and adverse effects were investigated.

Results: Active HD-tDCS induced more ventilator-free days compared to sham HD-tDCS. Patients in the active group vs in the sham group experienced lower organ dysfunction, delirium, and length of stay rates over time. In addition, positive clinical response was higher in the active vs sham group. There was no significant difference in the prespecified secondary outcomes at 5 days. Adverse events were similar between groups.

* Corresponding author. Health Center, Neuroscience and Aging Laboratory, Campus I, 58051-085, Paraíba, Brazil.

E-mail address: suellen.andrade@academico.ufpb.br (S.M. Andrade).

<https://doi.org/10.1016/j.brs.2022.05.006>

1935-861X/© 2022 Published by Elsevier Inc. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Conclusions: Among patients with COVID-19 and moderate to severe ARDS, use of active HD-tDCS compared with sham HD-tDCS plus respiratory rehabilitation resulted in a statistically significant increase in the number of ventilator-free days over 28 days. HD-tDCS combined with concurrent rehabilitation therapy is a safe, feasible, potentially add-on intervention, and further trials should examine HD-tDCS efficacy in a larger sample of patients with COVID-19 and severe hypoxemia.

© 2022 Published by Elsevier Inc. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. Introduction

Patients critically ill with coronavirus disease 2019 (COVID-19) often require mechanical ventilation and prolonged hospitalization duration to restore adequate gas exchange and to alleviate acute respiratory distress syndrome (ARDS) [1]. There is variability between individual studies with respect to frequency of ARDS caused by COVID-19 [2–4]; individual studies for which data is available indicate that among hospitalized COVID-19 patients, approximately 1/3 (33%) develop ARDS, 1/4 (26%) require transfer to an intensive care unit (ICU), and 1/6 (16%) receive invasive mechanical ventilation [5]. Injury to the brain – whether secondary to systemic (respiratory system) dysfunction, neuro-vascular damage, or direct neural-invasion (e.g., via the olfactory nerve) [6] contributes to COVID-19 pathophysiology, symptoms, and progression [7]. Non-invasive brain stimulation approaches have been investigated for the management of disorders related to COVID-19 [8,9]. Regarding its anti-inflammatory actions, non-invasive vagus nerve stimulation has been trialed for the treatment of respiratory symptoms and inflammatory markers among patients who were hospitalized for COVID-19 [10].

High-Definition transcranial Direct Current Stimulation (HD-tDCS) is a special form of non-invasive brain stimulation that allows: 1) focal stimulation of cortical targets 2) using direct current to boost excitability and neuroplasticity [11]; 3) with minimal side-effects; and 4) in a portable way [12]. In severe COVID cases, muscle fatigue and weakness can hamper respiratory function leading to a vicious cycle requiring mechanical ventilation, which *per se*, can cause more weakness [13]. tDCS applied over the diaphragmatic motor cortex may engage not only intracortical circuits, but also spinal motor circuits, modulating the respiratory motor evoked potentials [14]. Because COVID-19 is believed to induce or exacerbate microvascular injury [15], the potential neurovascular response induced by tDCS may provide further benefit [16].

Given the potential adjuvant effect of neurostimulation, tDCS can enhance gains to the rehabilitation results on the motor and cognitive function under different clinical conditions [17,18]. For example, the motor cortex is responsible for coherent cortico-muscular oscillations [19] and tDCS actions cortical networks enhance intermuscular coherence [20]. Specifically, regarding the respiratory function, tDCS paired with exercise training enhances breathing in patients with chronic stroke patients, as indicated by an increase in forced expiratory volume and forced vital capacity [21]. In healthy subjects, anodal tDCS increased chest wall intermuscular coherence during breathing [22]. Separately, tDCS actions on cerebral blood flow [23,24] have been directly linked to cortical-motor drive [25,26]. These findings indicate that tDCS can facilitate cortical activity and restore functional coupling between central and peripheral motor systems, directly or as adjuvant therapy, supporting functional recovery.

The HD-RECOVERY randomized clinical trial was conducted to evaluate the efficacy and safety of active or sham HD-tDCS in association with respiratory rehabilitation in patients with moderate to severe ARDS due to COVID-19. The hypothesis was that HD-tDCS

combined with concurrent rehabilitation therapy would increase the number of ventilator-free days during the first 28 days, thereby reducing rates of delirium, organ dysfunction, and hospital length of stay.

2. Methods

2.1. Overview

This trial was an investigator-initiated, parallel-group, stratified, double-blinded randomized clinical trial. The protocol was approved by the independent ethics committee (Paraíba Government) and conducted in compliance with the Declaration of Helsinki [27]; it is registered in clinicaltrials.gov (NCT04844554). All patients or legally authorized representatives provided written informed consent.

2.2. Participants

Patients underwent screening and randomization between April 14 to September 2, 2021. Final follow-up was completed on October 4, 2021. Patients of at least 18 years-old with a PCR-confirmed SARS-CoV-2 diagnosis and receiving mechanical ventilation at least 48 h of meeting criteria for moderate to severe acute respiratory distress syndrome (ARDS), under weaning, were enrolled in this study. An ARDS diagnosis was made according to the Berlin Definition criteria [28]. Patients were excluded if they had a condition that could prevent adequate performance of inspiratory muscle training (e.g., neuropathy, myopathy, agitation), pregnancy or active lactation, Glasgow Coma Scale (GCS) [29] \leq 8, consent refusal, and contraindications to brain stimulation (e.g., aneurysm clips) [30].

2.3. Randomization

Randomization was performed through an online web-based system using computer-generated random numbers stratified by age. Participants admitted consecutively were assigned randomly in a 1:1 ratio to receive active or sham HD-tDCS for 10 days or until ICU discharge, whichever occurred first, plus respiratory rehabilitation. Treatment assignments were concealed from patients, clinicians, investigators, trial statisticians and the data and safety monitoring committee.

2.4. Data collection and monitoring

Patients were followed up for 28 days after randomization (both hospitalized patients and those who had been discharged). Previous studies showed that severe COVID-19 can occur in otherwise healthy individuals, but certain underlying medical comorbidities have also been associated with severe illness and morbidity [31,32]. Since clinical characteristics at baseline are factors that may help to better define the risks of mechanical ventilation [33], we included the comorbidities most prevalent among these COVID-19 patients.

Data on demographic characteristics, hemodynamic variables, respiratory status, adverse events, and concomitant medications were collected. In addition, we obtained the following information at baseline (day 1): degree of comorbidity, as assessed by the Charlson Comorbidity Index (CCI) [34], and severity of acute injury throughout Simplified Acute Physiology Score III (SAPS-III) [35,36].

Trial investigators reported any serious adverse events daily through day 28. Individual patient data on infections and/or serious adverse events were adjudicated by a blinded investigator. Trial data were monitored (including consent and source data verification) by independent monitors according to a prespecified monitoring plan.

2.5. Interventions

2.5.1. HD-tDCS

HD-tDCS was delivered on 10 consecutive weekdays, with two sessions per day (in the morning and in the afternoon). For each participant, a 3-mA current was applied via a center anode using a Soterix Medical Inc. stimulator (mini-CT with 4 × 1 adaptor, Soterix Medical, New York, NY, USA). The center anode was placed at the left diaphragmatic primary motor cortex (4 cm lateral to the midline and 1 cm anterior to the binaural line) [37] and the four cathodes were spaced in a radius ~7.5 cm from the center electrode. The Soterix Medical adaptor passively splits current produced by the mini-CT among these cathodes. For those in the active group, the electrical current was delivered with a ramp-up time of 30 s, held at 3 mA for 30 min, and then ramped down over 30 s. In the sham condition, the device provided a 30-s ramp-up period to the full 3 mA, followed immediately by a 30-s ramp down. Each set of five electrodes were used for 10 sessions and the location of each electrode was rotated to where any given electrode was used as the center anode twice and ring cathode 8 times [38]. The electrodes were placed in an adapted headgear that supported the required HD-tDCS positions (Fig. 1). Brain stimulation was applied concurrently with pulmonary rehabilitation to both groups. Investigator blinding was performed by a predefined code triggered active or sham tDCS (i.e., a participant-specific code that was entered into the unit at the start of the session), thereby ensuring study team members were blind to stimulation condition. Blinding efficacy was assessed at the end point by asking staff to guess the patient's allocation group.

2.6. Respiratory rehabilitation

The inspiratory muscle training program was based upon a previous protocol applied to facilitate weaning of ventilatory support [39]. Training was based on progressive regimen: In the first session, the target was to start with a load of 30% of the participant's maximal inspiratory pressure, increasing daily by 10% (absolute), with training for 5 min, twice a day, seven days a week throughout the weaning period. Supplemental oxygen was provided as needed. During 25 remaining minutes, the session also included regular physiotherapy intervention including daily passive movement of all joints and positional therapy [40–42].

The session was interrupted if a patient had any of the following: respiratory frequency of more than 30 breaths per minute, arterial saturation below 90%, systolic blood pressure above 180 mm Hg or below 90 mm Hg, paradoxical breathing, or tachycardia above 140 beats per minute [43–45]. When any of these signs occurred during a training session, the load was maintained (i.e., not increased by 10%) at the next session.

2.7. Outcomes

The primary outcome was ventilator-free days during the first 28 days, defined as the number of days free from mechanical ventilation for at least 48 consecutive hours [46]. Patients discharged from the hospital before 28 days were considered free from mechanical ventilation at 28 days and nonsurvivors at day 28 were considered to have no ventilator-free days [47].

Secondary outcomes were assessed at baseline, and on days 5, 11, and 28, and included changes in the (1) Confusion Assessment Method for the ICU (CAM-ICU) [48] and the Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) scale scores [49]; (2) hospital length of stay (LOS), defined as the total number of days that patients remained hospitalized from the date of randomization until the date of hospital discharge; (3) rates of adverse events; (4) clinical response (defined as a reduction from baseline SOFA score from all weeks greater than 3 points). Changes in SOFA score have been used to assess the effects of therapeutic interventions [50–53]. The delta SOFA (Δ SOFA) and delta CAM-ICU (Δ CAM-ICU) were calculated as the difference between the score on a specific day and the score on the day of admission to the ICU.

2.8. Statistical analysis

No reliable data were available at the time of trial design to allow for an accurate sample size calculation. We originally estimated that 24 patients per group or 48 patients in total were required for the trial to have 80% power to detect a difference of 3.2 (1.2 SD; margin of clinically meaningful difference 1.9) ventilator-free days between groups, assuming that 15% of patients would die at 28 days. The mean difference of ventilator-free days was calculated based on local hospital-level pilot clinical estimates, and no prior data were available on the distribution of clinical status categories over time in patients with severe COVID-19.

For the primary outcome (ventilator-free days during the first 28 days) and secondary outcomes (delta SOFA, delta CAM-ICU and LOS), we performed a generalized linear model, adjusted for age and partial pressure of arterial blood oxygen to fraction of inspired oxygen (Pao₂:Fio₂) ratio at randomization. The effect size was estimated as the mean difference (95% confidence interval) for the primary outcome and LOS, and as the number needed to treat (NNT) for the secondary outcomes.

Clinical responses of the interventions at 28 days after randomization were compared using Kaplan–Meier survival curves. The Cox model was used to estimate the hazard ratio and its confidence interval associated with the intervention [54].

We performed exploratory analysis to identify whether the variables age, Pao₂:Fio₂ ratio, CCI score, Simplified Acute Physiology Score III (SAPS III) are moderators of the primary outcome. Additionally, we performed linear model analyses to estimate the interactions for these baseline outcomes (age, CCI, Pao₂:Fio₂ and SAPS score) and the length of stay.

Adverse events are expressed as counts and percentages and compared between groups using the χ^2 test. All patients who were randomized and received at least 1 HD-tDCS session were assessed for efficacy and adverse events. There was no loss to follow-up, and data on the clinical outcomes and mortality within 28 days were available for all patients. Missing values on individual outcome components were imputed as normal. One patient was declared by a physician on day 8 as being well enough to hospital discharge. To test the integrity of blinding, investigator's responses when asked to guess the treatment group of patients were compared for active and sham groups using a χ^2 test. A 2-sided *P* value of less than 0.05 was considered statistically significant. All analyses were performed using the R software version 4.0.2 (R Core Team) and the

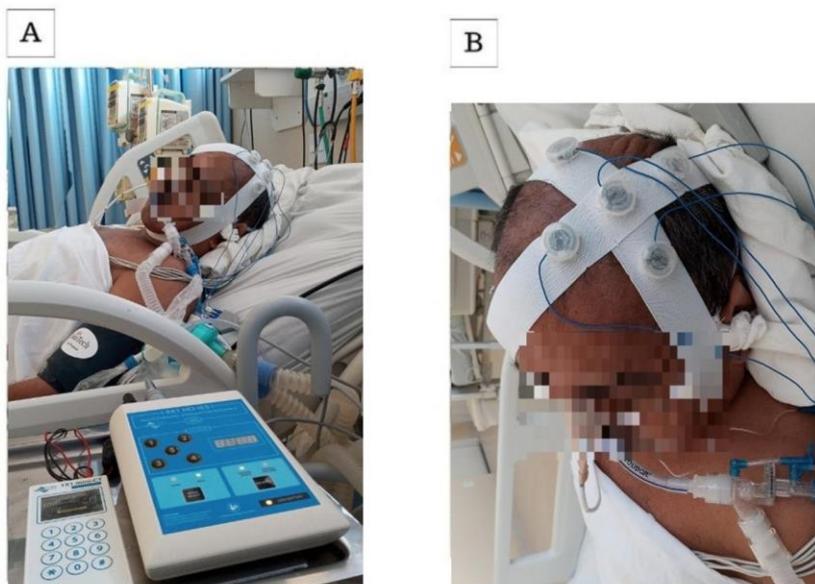


Fig. 1. HD-tDCS setup and montage. A. 4x1 HD-tDCS device. B. Soterix neurostimulator delivering the current on the 5 electrodes in a 4x1 HD-tDCS montage positioned around a circle of 7.5 cm of diameter centered to the target electrode position (the left diaphragmatic motor cortex).

GraphPad Prism software version 8.0 for Mac (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

3. Results

3.1. Participants

Of 168 patients who consented and were assessed for eligibility, 112 were excluded (97 did not meet eligibility criteria and 15 withdrew consent). Of the enrolled patients, 28 were randomly assigned to receive active HD-tDCS and 28 to the sham group (Fig. 2).

3.2. Trial and concomitant interventions

Both groups received pulmonary rehabilitation daily during HD-tDCS. Baseline characteristics were well balanced between groups, including severity of ARDS. The use of respiratory, circulatory, and kidney support and the use of other anti-inflammatory, antiviral, and antibacterial drugs were similar between groups at baseline (Table 1).

3.3. Primary outcome

Multiple linear model analysis revealed that the mean number of days free from mechanical ventilation during the first 28 days was significantly higher in the active group than in sham group ($\beta_{\text{interv}} = 7.47$; 95% CI, 3.95–10.99; $P < .001$; mean difference = 7.42; 3.90 to 10.95) (Table 2). The cumulative frequency of ventilator-free days according to the study group is shown in Fig. 3.

3.4. Secondary outcomes

3.4.1. Organ dysfunction and clinical response

Organ dysfunction was similar between groups at baseline and on day 5 ($P > .05$). However, patients in the active group experienced significantly greater improvement over time compared with those in the sham group at 11 days ($\beta_{\text{int}} = 5.43$; 95% CI, 3.37 to 7.57; $P < .001$) and 28 days ($\beta_{\text{int}} = 7.21$; 95% CI, 4.86 to 9.57; $P < .001$) (Table 2) (Fig. 4).

Respectively for the active and sham groups, 24 and 11 patients presented positive clinical responses (i.e., a change from baseline in SOFA score of ≥ 3 points) at 28 days. Kaplan–Meier analysis showed a cumulative survival (positive clinical response) of 83.33% (standard error = 8.7%) and 52.80% (standard error = 9.7%), respectively for the active and sham groups. The Cox proportional hazards ratio associated with active group was 2.00 (95% CI, 0.96–4.146; $P = .0009$). The corresponding NTT was 2 and the relative risk reduction associated with active group was 0.91 (95% CI, 0.37–0.98; $P < .05$) (Fig. 5).

3.5. Length of stay and delirium

The median length of stay was shorter in the active group compared with the sham group ($\beta_{\text{int}} = 7.03$; 95% CI, 4.44 to 9.61; $P < .001$; mean difference, 7.75; 4.89 to 10.60) (Table 2). As suggested by the earlier discharge date, the mean Delta CAM-ICU score at 11 days after randomization was significantly lower in the active group ($\beta_{\text{int}} = -2.79$; 95% CI, -3.79 to -1.79; $P < .001$) when delirium cleared in 13 patients from the active group but only 5 in the sham group (NNT = 3.3, Relative risk reduction 0.36; 95% CI, 0.04–0.58) (Table 2; Fig. 4B). At 28 days, there was no significant difference between the groups in the Delta CAM-ICU score

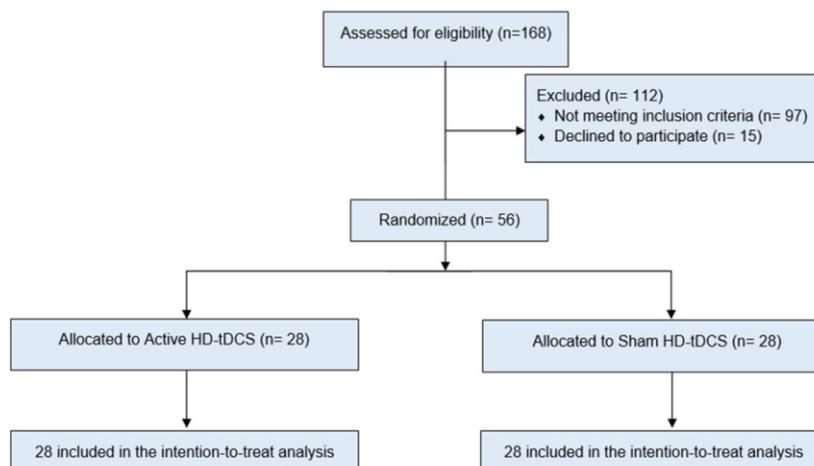


Fig. 2. Screening, Randomization, and Follow-up of Patients in the HD-RECOVERY trial. HD-tDCS indicates High-definition transcranial direct current stimulation.

(β int = 0.23; 95% CI, -0.98 to 1.45; $P = .69$) when only 1 patient in each group remained in delirium.

3.6. Safety outcomes

All 7 [12.5%] but one death through day 28 (3 in the active group and 4 in the sham group) occurred in patients aged 69 years or older, but none was attributed to HD-tDCS treatment. A total of 5 and 3 mild adverse events (i.e., transient skin redness) were recorded in the active and sham groups, respectively ($P = .44$). More patients in the sham group experienced secondary infections (11

patients) compared with patients in the active group (8 patients) during the study period ($P = .05$). Apart from deaths, 2 serious adverse events were reported, all in the sham group: 1 episode of stroke possibly related to SARS-CoV-2 (on day 17), 1 episode of cardiac dysfunction related to a pulmonary embolism (on day 23). No serious adverse events were attributed to the study treatment. No serious adverse events occurred in the active group.

3.7. Exploratory analyses

In subgroup analyses, tests for effect were not statistically significant for subgroups defined by age ($P = .35$), CCI ($P = .40$), $\text{PaO}_2\text{:FiO}_2$ ratio ($P = .79$) and SAPS III ($P = .60$). No significant effect was found between baseline clinical status (age, CCI, $\text{PaO}_2\text{:FiO}_2$ and SAPS score) and length of stay ($P > .42$).

3.8. Integrity of blinding

Investigators were unable to guess the participant's actual group beyond chance. The stimulation groups did not differ in this regard ($\chi^2(2) = 0.157$; $P = .71$).

4. Discussion

In this randomized clinical trial involving 58 adults with moderate to severe ARDS due to COVID-19, active HD-tDCS plus respiratory rehabilitation significantly increased the number of days free of mechanical ventilation during the first 28 days. This outcome suggests a clinically meaningful benefit of HD-tDCS in patients with severe COVID-19. Furthermore, HD-tDCS combined with concurrent rehabilitation therapy was associated with improvement in other parameters (clinical status, delirium, length of hospital stay) without increasing adverse events in this population of critically ill COVID-19 patients.

The observed clinical benefit from HD-tDCS in the present study may be explained by several underlying mechanisms. A first plausible explanation relates to the interplay between the altered respiratory drive during mechanical ventilation and the corticospinal

Table 1
Baseline characteristics.^a

Characteristic	Active HD-tDCS	Sham HD-tDCS
Age, mean (SD), y	67.25	68.92
Women, n (%)	9 (32.14)	10 (35.71)
SAPS III, median (IRQ) ^b	58 (51.5–68.25)	61 (50–65)
CCI, median (IRQ) ^c	3 (1.75–4.25)	4 (3–5)
$\text{PaO}_2\text{:FiO}_2$ ratio, mean (SD)	167.6 (41.74)	168.7 (34.40)
Comorbidities and risk factors, n (%)		
Hypertension	14 (50)	16 (57.14)
Chronic ischemic heart disease	8 (28.57)	7 (25)
COPD	3 (10.71)	5 (17.85)
Chronic kidney disease	2 (7.14)	3 (10.71)
Diabetes	8 (28.57)	5 (17.85)
Chronic liver disease	3 (10.71)	2 (7.14)
Concomitant Medications, n (%)		
Convalescent plasma or serum	7 (25)	7 (25)
Steroids	15 (53.57)	16 (57.14)
Antibiotics	21 (75)	23 (82.14)
Adrenergic agents	16 (57.14)	14 (50)

Abbreviations: SAPS III, Simplified Acute Physiology Score III; CCI, Charlson Comorbidity Index; $\text{PaO}_2\text{:FiO}_2$, Partial Pressure of Arterial Oxygen; COPD, Chronic obstructive pulmonary disease.

^a Continuous variables are presented as mean (SD) unless otherwise indicated.
^b The Simplified Acute Physiology Score III ranges from 0 to 217. High scores indicate a higher risk of death, and it is calculated from 20 variables at admission of the patient.

^c Express as sum of the weights, with higher scores indicating not only a greater mortality risk but also more severe comorbid conditions.

Table 2
Clinical outcomes.

Primary Outcome ^a	Active (n = 28)	Sham (n = 28)	P value ^b
Ventilator-free days			
Mean (95% CI)	16.57 (14.20–18.94)	9.14 (6.72–11.55)	.01
Median (IQR)	18 (16.75–19.25)	9.5 (3–12)	
Secondary Outcomes			
Organic Dysfunction, Mean (95% CI) ^c			
Baseline	11.64 (10.78–12.50)	10.85 (9.89–11.82)	.24
Day 5	10.81 (9.63–11.99)	11 (9.88–12.11)	.82
Day 11	4.62 (3.45–5.80)	9.28 (7.90–10.66)	.01
Day 28	1.04 (0.64–1.43)	7.5 (6.54–8.45)	.01
Delirium, Mean (95% CI) ^d			
Baseline	4.75 (4.03–5.46)	4.35 (3.60–5.11)	.46
Day 5	4.29 (3.65–4.94)	4.32 (3.50–5.13)	.96
Day 11	0.88 (0.52–1.25)	3.35 (2.62–4.08)	.01
Day 28	0.04 (0.03–0.11)	0.15 (0.13–0.43)	.50
Length of Stay Mean (95% CI)	15.11 (13.27–16.93)	22.86 (20.81–24.89)	.01
Median (IQR)	15 (12–17)	22 (19–26)	

^a Express as the number of days alive and free from mechanical ventilation for at least 48 consecutive hours.

^b P value for the treatment group comparison were estimated using general linear models.

^c Measured in 6 organ systems (cardiovascular, hematologic, gastrointestinal, renal, pulmonary, and neurologic), with each organ score from 0 to 4, resulting in an aggregated score that ranges from 0 to 24, with higher scores indicating greater dysfunction. An initial SOFA score up to 9 predicts a mortality risk of less than 33%.

^d Final CAM-ICU-7 score ranges from 0 to 7 with 7 being most severe. CAM-ICU-7 scores were further categorized as 0–2: no delirium, 3–5: mild to moderate delirium, and 6–7: severe delirium.

control of respiratory muscles [55]. Previous studies have shown supra-threshold brain stimulation activates cortical projections directly stimulating the diaphragm [56–58]. Mechanical ventilation reduces the excitability of the motor cortex supplying the diaphragm [59]. Thus, considering that modulation of motor cortex excitability is the canonical neurophysiological outcome of tDCS [60,61], our intervention may restore excitability of the diaphragmatic primary motor cortex. Second, is the boosting of motor learning and motor rehabilitation efficacy when paired with tDCS [62]. Third, enhancement of cerebral blood flow by tDCS may have a neuroprotective function and/or counteract COVID-19 microvascular injury [63–65].

The definition of clinical response used in this study (3 points grades on the SOFA scale) essentially translates to a change in clinical condition requiring invasive mechanical respiratory support, sepsis or death [66]. The difference between groups was associated with a large effect size and this reduction is clinically relevant, in which a tolerable, safe, and widely available intervention like HD-tDCS increase the number of ventilator-free days and may reduce the risk of pulmonary complications, hospital length of stay, organ dysfunction and burden to the health care system.

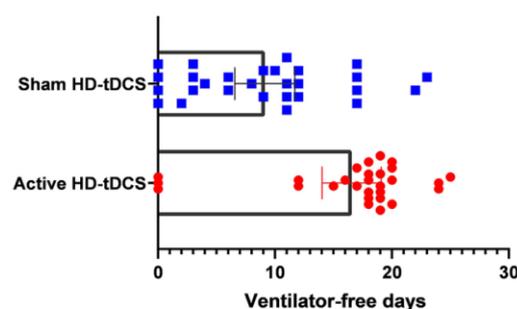


Fig. 3. Ventilator-Free Days at 28 Days. Panels showing individual changes in ventilator-free days from baseline to treatment slopes (follow-up) are displayed with box plots for groups (mean, central line; SD, boxes) overlaid with dots for single patients.

Active HD-tDCS was superior to sham HD-tDCS to delirium at 11 days, but not on day 28. These time points reflect different clinical concepts and the presence of ‘a ceiling’ effect may explain these findings. Often physicians and nurses are reluctant to discharge patients with delirium from the ICU [67]. In our study, after 28 days

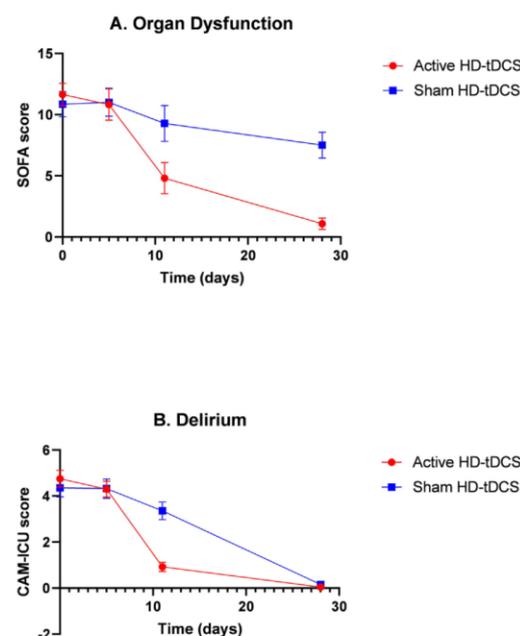


Fig. 4. Organ Dysfunction and Delirium Rates. Distributions of the Secondary Outcomes Organ Dysfunction, SOFA score, (A) and Delirium, CAM-ICU score, (B) from baseline to endpoint. Active High-definition transcranial direct current stimulation (HD-tDCS) was superior to sham. Intention-to-treat analysis. Error bars indicate 1 SD.

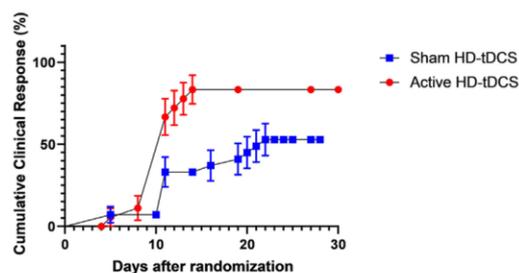


Fig. 5. Clinical Response. Distributions of the Secondary Outcomes Organ Dysfunction, SOFA score, (A) and Delirium, CAM-ICU score, (B) from baseline to endpoint. Active High-definition transcranial direct current stimulation (HD-tDCS) was superior to sham. Intention-to-treat analysis. Error bars indicate 1 SD.

of enrollment, most of the active group patients have been discharged from ICU and lower rates of delirium were found in the remaining patients from both groups. Future trials should consider monitoring delirium patients whose critical illness has resolved.

HD-tDCS plus respiratory rehabilitation was tolerable and safe, with both groups presenting similar adverse events. Mild and transient scalp erythema was the only adverse event associated with Active HD-tDCS, which is consistent with the general population non-significant-risk profile of tDCS [68]. HD-tDCS was selected based on its established tolerability, portability, and focal cortical modulation [69] – and shown here to be deployable to intensive care units.

The strengths of this trial include the pragmatic protocol, representative of a real world setting, allocation concealment and blinding and the high percentage of follow-up at 28 days. Also, adverse events data regarding HD-tDCS use among patients with COVID-19 were prespecified secondary safety outcomes and accurately provided, along with detailed data on ARDS treatment, and clinical variables.

This study has several limitations. First, because of the urgent circumstances in which the study was conducted, the in-hospital study setting may limit the generalizability of these results to patients with COVID-19 in other settings. Second, other laboratory/clinical parameters that are not routinely collected could elucidate the effect of intervention on various pathophysiological (e.g., inflammatory, oxidative stress, Body mass index evaluation and vaccination status) pathways. Third, since these patients did not receive any specific COVID-19 medication, for example, the monoclonal antibodies, but only medical support, changes in the treatment of COVID-19 during the study (such as adjusting medication dose) may have influenced the results. Fourth, this clinical trial cannot distinguish between alternative therapeutic mechanisms that have been identified in pre-clinical models and non-COVID trials, including enhancement of diaphragmatic neuromuscular drive [56] or neuro-vascular modulation [64,65,70,71]. Fifth, the conditions of the trial did not allow leveraging techniques such as image guided targeting [72] or additional study arms (e.g., tDCS alone). Sixth, this study was conducted prior to both widespread vaccination and circulation of the Delta (B.1.617.2) and Omicron (B.1.1.529) variants.

5. Conclusions

Among critically ill patients with COVID-19 and moderate to severe ARDS, active HD-tDCS significantly increased the number of ventilator-free days over 28 days. The results of this trial support

the early use of HD-tDCS associated with respiratory support of severe COVID-19 patients and encourage further trials to examine the efficacy of brain stimulation in a large sample with pulmonary disease.

Funding

This trial was funded and supported by Governo do Estado da Paraíba (Brazil) and by the National Institutes of Health - NHI (1R01NS112996; 1R01NS101362).

CRedit authorship contribution statement

Suellen Marinho Andrade: designed the experiment, performed data analysis, prepared the manuscript and figures. **Maria Cecília de Araújo Silvestre:** performed the clinical experiments and data analysis. **Eduardo Ériko Tenório de França:** designed the experiment. **Maria Heloísa Bezerra Sales Queiroz:** performed the clinical experiments, prepared the manuscript and figures. **Kelly de Jesus Santana:** performed the clinical experiments, prepared the manuscript and figures. **Marcela Lais Lima Holmes Madruga:** performed the clinical experiments, prepared the manuscript and figures. **Cristina Katya Torres Teixeira Mendes:** designed the experiment and conducted critical revision of the manuscript. **Eliane Araújo de Oliveira:** designed the experiment and conducted critical revision of the manuscript. **João Felipe Bezerra:** designed the experiment and conducted critical revision of the manuscript. **Renata Gomes Barreto:** designed the experiment and conducted critical revision of the manuscript. **Silmara Maria Alves Fernandes da Silva:** performed the clinical experiments, prepared the manuscript and figures. **Thais Alves de Sousa:** performed the clinical experiments, prepared the manuscript and figures. **Wendy Christyan Medeiros de Sousa:** performed the clinical experiments, prepared the manuscript and figures. **Mariana Patrícia da Silva:** performed the clinical experiments, prepared the manuscript and figures. **Vanessa Meira Cintra Ribeiro:** designed the experiment and conducted critical revision of the manuscript. **Paulo Lucena:** designed the experiment and conducted critical revision of the manuscript. **Daniel Beltrammi:** designed the experiment and conducted critical revision of the manuscript. **Rodrigo Ramos Catharino:** designed the experiment and conducted critical revision of the manuscript. **Egas Caparelli-Dáquer:** designed the experiment and conducted critical revision of the manuscript. **Benjamin M. Hampstead:** designed the experiment and conducted critical revision of the manuscript. **Abhishek Datta:** designed the experiment. **Antonio Lucio Teixeira:** designed the experiment and conducted critical revision of the manuscript. **Bernardino Fernández-Calvo:** designed the experiment and conducted critical revision of the manuscript. **João Ricardo Sato:** performed the data analysis and conducted critical revision of the manuscript. **Marom Bikson:** designed the experiment and prepared the manuscript.

Declaration of competing interest

The City University of New York holds patents on brain stimulation with MB as inventor. MB has equity in Soterix Medical Inc. MB consults, received grants, assigned inventions, and/or serves on the SAB of SafeToggles, Boston Scientific, GlaxoSmithKline, Biophysics, Mecta, Lumenis, Halo Neuroscience, Google-X, i-Lumen, Humm, Allergan (Abbvie), Apple. AD is an employee and has equity in Soterix Medical Inc.

References

- [1] Ramani C, Davis EM, Kim JS, Provencio JJ, Enfield KB, Kadl A. Post-icu covid-19 outcomes. *Chest* 2021;159(1):215–8. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2020.08.2056>.
- [2] Elsayed HH, Hassaballa AS, Ahmed TA, Gumaa M, Sharkawy HY, Moharram AA. Variation in outcome of invasive mechanical ventilation between different countries for patients with severe COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2021 Jun 4;16(6):e0252760. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0252760>.
- [3] Zirpe KG, Tiwari AM, Gurav SK, et al. Timing of invasive mechanical ventilation and mortality among patients with severe COVID-19-associated acute respiratory distress syndrome. *Indian J Crit Care Med* 2021 May;25(5):493–8. <https://doi.org/10.5005/jip-journals-10071-23816>.
- [4] Zeiser FA, Donida B, da Costa CA, et al. First and second COVID-19 waves in Brazil: a cross-sectional study of patients' characteristics related to hospitalization and in-hospital mortality. *Lancet Reg Health Am* 2022 Feb;6:100107. <https://doi.org/10.1016/j.lana.2021.100107>.
- [5] Tzotzos SJ, Fischer B, Fischer H, Zeitlinger M. Incidence of ARDS and outcomes in hospitalized patients with COVID-19: a global literature survey. *Crit Care* 2020 Aug 21;24(1):516. <https://doi.org/10.1186/s13054-020-03240-7>.
- [6] DosSantos MF, Devalle S, Aran V, et al. Neuromechanisms of sars-cov-2: a review. *Front Neuroanat* 2020;14:37. <https://doi.org/10.3389/fnana.2020.00037>.
- [7] Steardo L, Steardo L, Zorec R, Verkhatsky A. Neuroinfection may contribute to pathophysiology and clinical manifestations of COVID-19. *Acta Physiol* 2020;229(3). <https://doi.org/10.1111/apha.13473>.
- [8] Baptista AF, Baltar A, Okano AH, et al. Applications of non-invasive neuro-modulation for the management of disorders related to covid-19. *Front Neurol* 2020;11:573718. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.573718>.
- [9] Gómez L, Vidal B, Cabrera Y, Hernández L, Rondón Y. Successful treatment of post-covid symptoms with transcranial direct current stimulation. *Prim Care Companion CNS Disord* 2021;23(6). <https://doi.org/10.4088/PCC.21cr03059>.
- [10] Tornero C, Pastor E, del Mar Garzando M, et al. Non-invasive vagus nerve stimulation for respiratory symptoms of covid-19: results from a randomized controlled trial (Savior i). *Respir Med* 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.09.24.21264045>.
- [11] Jackson MP, Rahman A, Lafon B, et al. Animal models of transcranial direct current stimulation: methods and mechanisms. *Clin Neurophysiol* 2016;127(11):3425–54. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2016.08.016>.
- [12] Villamar MF, Volz MS, Bikson M, Datta A, DaSilva AF, Fregni F. Technique and considerations in the use of 4x1 ring high-definition transcranial direct current stimulation (HD-tDCS). *JoVE* 2013;(77):50309. <https://doi.org/10.3791/50309>.
- [13] Azabou E, Roche N, Sharshar T, Bussel B, Lofaso F, Petitjean M. Transcranial direct-current stimulation reduced the excitability of diaphragmatic corticospinal pathways whatever the polarity used. *Respir Physiol Neurobiol* 2013;189(1):183–7. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2013.07.024>.
- [14] Kadosh RC, Zaehele T, Krauel K. In: Non-invasive brain stimulation (Nibs) in neurodevelopmental disorders. first ed. Elsevier; 2021.
- [15] Østergaard L. SARS CoV-2 related microvascular damage and symptoms during and after COVID-19: Consequences of capillary transit-time changes, tissue hypoxia and inflammation. *Physiol Rep* 2021;9(3):e14726. <https://doi.org/10.14814/phy2.14726>.
- [16] Siddiqi HK, Libby P, Ridker PM. COVID-19 – a vascular disease. *Trends Cardiovasc Med* 2021;31(1):1–5. <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2020.10.005>.
- [17] Andrade SM, Batista LM, Nogueira LL, de Oliveira EA, de Carvalho AG, Lima SS, Santana JR, de Lima EC, Fernández-Calvo B. Constraint-induced movement therapy combined with transcranial direct current stimulation over premotor cortex improves motor function in severe stroke: a pilot randomized controlled trial. *Rehabil Res Pract* 2017;6842549. <https://doi.org/10.1155/2017/6842549>.
- [18] Ministro G, Castaño JB, Barboza CA, Moura EG, Ferreira-Melo SE, Mostarda CT, Fattori A, Moreno-Junior H, Rodrigues B. Acute transcranial direct current stimulation (tdcs) improves ventilatory variability and autonomic modulation in resistant hypertensive patients. *Respir Physiol Neurobiol* 2022 Mar;297:103830. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2021.103830>.
- [19] Gerloff C, Braun C, Staudt M, Hegner YL, Dichgans J, Krägeloh-Mann I. Coherent corticomuscular oscillations originate from primary motor cortex: evidence from patients with early brain lesions. *Hum Brain Mapp* 2006 Oct;27(10):789–98. <https://doi.org/10.1002/hbm.20220>.
- [20] Power HA, Norton JA, Porter CL, Doyle Z, Hui I, Chan KM. Transcranial direct current stimulation of the primary motor cortex affects cortical drive to human musculature as assessed by intermuscular coherence. *J Physiol* 2006 Dec 15;577(Pt 3):795–803. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.116939>.
- [21] Lee DJ, Lee YS, Kim HJ, Seo TH. The effects of exercise training using transcranial direct current stimulation (tDCS) on breathing in patients with chronic stroke patients. *J Phys Ther Sci* 2017 Mar;29(3):527–30. <https://doi.org/10.1589/jpts.29.527>.
- [22] Tomczak CR, Greidanus KR, Boliek CA. Modulation of chest wall intermuscular coherence: effects of lung volume excursion and transcranial direct current stimulation. *J Neurophysiol* 2013 Aug;110(3):680–7. <https://doi.org/10.1152/jn.00723.2012>.
- [23] Stagg CJ, Lin RL, Mezue M, Segerdahl A, Kong Y, Xie J, Tracey I. Widespread modulation of cerebral perfusion induced during and after transcranial direct current stimulation applied to the left dorsolateral prefrontal cortex. *J Neurosci* 2013 Jul 10;33(28):11425–31. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3887-12.2013>.
- [24] Zheng X, Alsop DC, Schlaug G. Effects of transcranial direct current stimulation (tDCS) on human regional cerebral blood flow. *Neuroimage* 2011 Sep 1;58(1):26–33. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.06.018>.
- [25] Mosayebi-Samani M, Jamil A, Salvador R, Ruffini G, Hauelsen J, Nitsche MA. The impact of individual electrical fields and anatomical factors on the neurophysiological outcomes of tDCS: a TMS-MEP and MRI study. *Brain Stimul* 2021 Mar-Apr;14(2):316–26. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2021.01.016>.
- [26] Paquette C, Sidel M, Radinska BA, Soucy JP, Thiel A. Bilateral transcranial direct current stimulation modulates activation-induced regional blood flow changes during voluntary movement. *J Cerebr Blood Flow Metabol* 2011 Oct;31(10):2086–95. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2011.72>.
- [27] Bahr-Hosseini M, Bikson M. Neurovascular-modulation: a review of primary vascular responses to transcranial electrical stimulation as a mechanism of action. *Brain Stimul* 2021;14(4):837–47. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2021.04.015>.
- [28] World medical association declaration of helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA* 2013;310(20):2191. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.281053>.
- [29] Teasdale G, Jennett B. Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale. *Lancet* 1974;2(7872):81–4. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(74\)91639-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(74)91639-0).
- [30] Woods AJ, Antal A, Bikson M, et al. A technical guide to tDCS, and related non-invasive brain stimulation tools. *Clin Neurophysiol* 2016;127(2):1031–48. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2015.11.012>.
- [31] Zeiser FA, Donida B, da Costa CA, et al. First and second COVID-19 waves in Brazil: a cross-sectional study of patients' characteristics related to hospitalization and in-hospital mortality. *Lancet Reg Health Am* 2022 Feb;6:100107. <https://doi.org/10.1016/j.lana.2021.100107>.
- [32] Iftimie S, López-Azcona AF, Vicente-Miralles M, et al. Risk factors associated with mortality in hospitalized patients with SARS-CoV-2 infection. A prospective, longitudinal, unicenter study in Reus, Spain. *PLoS One* 2020 Sep 3;15(9):e0234452. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234452>.
- [33] Izcovich A, Ragusa MA, Tortosa F, et al. Prognostic factors for severity and mortality in patients infected with COVID-19: a systematic review. *PLoS One* 2020 Nov 17;15(11):e0241955. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0241955>.
- [34] Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chron Dis* 1987;40(5):373–83. [https://doi.org/10.1016/0021-9681\(87\)90171-8](https://doi.org/10.1016/0021-9681(87)90171-8).
- [35] Metnitz PGH, Moreno RP, Almeida E, et al. SAPS 3–From evaluation of the patient to evaluation of the intensive care unit. Part 1: objectives, methods and cohort description. *Intensive Care Med* 2005;31(10):1336–44. <https://doi.org/10.1007/s00134-005-2762-6>.
- [36] Moreno RP, Metnitz PGH, Almeida E, et al. SAPS 3–From evaluation of the patient to evaluation of the intensive care unit. Part 2: development of a prognostic model for hospital mortality at ICU admission. *Intensive Care Med* 2005;31(10):1345–55. <https://doi.org/10.1007/s00134-005-2763-5>.
- [37] Acute respiratory distress syndrome: the berlin definition. *JAMA* 2012;307(23). <https://doi.org/10.1001/jama.2012.5669>.
- [38] Azabou E, Bao G, Heming N, et al. Randomized controlled study evaluating efficiency of low intensity transcranial direct current stimulation (TdcS) for dyspnea relief in mechanically ventilated covid-19 patients in icu: the tdcS-dysp-covid protocol. *Front Med* 2020;7:372. <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.00372>.
- [39] Hampstead BM, Ehmman M, Rahman-Filipiak A. Reliable use of silver chloride HD-tDCS electrodes. *Brain Stimul* 2020;13(4):1005–7. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2020.04.003>.
- [40] Cader SA, de Vale RGS, Castro JC, et al. Inspiratory muscle training improves maximal inspiratory pressure and may assist weaning in older intubated patients: a randomised trial. *J Physiother* 2010;56(3):171–7. [https://doi.org/10.1016/S1836-9553\(10\)70022-9](https://doi.org/10.1016/S1836-9553(10)70022-9).
- [41] Clinic E, Holand A, Pitta F, Troosters T. *Textbook of pulmonary rehabilitation*. Springer Nature; 2018.
- [42] Vitacca M, Carone M, Clini EM, et al. Joint statement on the role of respiratory rehabilitation in the covid-19 crisis: the Italian position paper. *Respiration* 2020;99(6):493–9. <https://doi.org/10.1159/000508399>.
- [43] Ambrosino N, Venturelli E, Vagheggin G, Clini E. Rehabilitation, weaning and physical therapy strategies in chronic critically ill patients. *Eur Respir J* 2012;39(2):487–92. <https://doi.org/10.1183/09031936.00094411>.
- [44] Caruso P, Denari SD, Ruiz SA, et al. Inspiratory muscle training is ineffective in mechanically ventilated critically ill patients. *Clinics* 2005;60(6). <https://doi.org/10.1590/S1807-5932200500060009>.
- [45] Conti G, Montini L, Pennisi MA, et al. A prospective, blinded evaluation of indexes proposed to predict weaning from mechanical ventilation. *Intensive Care Med* 2004;30(5):830–6. <https://doi.org/10.1007/s00134-004-2230-8>.
- [46] Béduneau G, Pham T, Schortgen F, et al. Epidemiology of weaning outcome according to a new definition. The wind study. *Am J Respir Crit Care Med* 2017;195(6):772–83. <https://doi.org/10.1164/rccm.201602-03200C>.

- [47] Tomazini BM, Maia IS, Cavalcanti AB, et al. Effect of dexamethasone on days alive and ventilator-free in patients with moderate or severe acute respiratory distress syndrome and covid-19: the codex randomized clinical trial. *JAMA* 2020;324(13):1307. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.17021>.
- [48] Ely EW, Margolin R, Francis J, et al. Evaluation of delirium in critically ill patients: validation of the confusion assessment method for the intensive care unit (CAM-ICU). *Crit Care Med* 2001;29(7):1370–9. <https://doi.org/10.1097/00003246-200107000-00012>.
- [49] Vincent JL, Moreno R, Takala J, et al. The sofa (Sepsis-related organ failure assessment) score to describe organ dysfunction/failure: on behalf of the working group on sepsis-related problems of the european society of intensive care medicine. *Intensive Care Med* 1996;22(7):707–10. <https://doi.org/10.1007/BF01709751>.
- [50] Vincent JL, de Mendonca A, Cantraine F, et al. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of a multicenter, prospective study. *Crit Care Med* 1998;26(11):1793–800. <https://doi.org/10.1097/00003246-199811000-00016>.
- [51] Sakr Y, Lobo SM, Moreno RP, et al. Patterns and early evolution of organ failure in the intensive care unit and their relation to outcome. *Crit Care* 2012;16(6):R222. <https://doi.org/10.1186/cc11868>.
- [52] Cruz DN, Antonelli M, Fumagalli R, et al. Early use of polymyxin b hemoperfusion in abdominal septic shock: the euphas randomized controlled trial. *JAMA* 2009;301(23):2445. <https://doi.org/10.1001/jama.2009.856>.
- [53] Jabre P, Combes X, Lapostolle F, et al. Etomidate versus ketamine for rapid sequence intubation in acutely ill patients: a multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 2009;374(9686):293–300. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)60949-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60949-1).
- [54] Spruance SL, Reid JE, Grace M, Samore M. Hazard ratio in clinical trials. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48(8):2787–92. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.8.2787-2792.2004>.
- [55] Pilloni G, Bikson M, Badran BW, et al. Update on the use of transcranial electrical brain stimulation to manage acute and chronic covid-19 symptoms. *Front Hum Neurosci* 2020;14:595567. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2020.595567>.
- [56] Gandevia SC, Rothwell JC. Activation of the human diaphragm from the motor cortex. *J Physiol* 1987;384(1):109–18. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1987.sp016445>.
- [57] Khedr E, Trakhan M. Localization of diaphragm motor cortical representation and determination of corticodiaphragmatic latencies by using magnetic stimulation in normal adult human subjects. *Eur J Appl Physiol* 2001;85(6):560–6. <https://doi.org/10.1007/s004210100504>.
- [58] Welch JF, Argento PJ, Mitchell GS, Fox EJ. Reliability of diaphragmatic motor-evoked potentials induced by transcranial magnetic stimulation. *J Appl Physiol* 2020;129(6):1393–404. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00486.2020>.
- [59] Sharshar T, Ross ET, Hopkinson NS, et al. Depression of diaphragm motor cortex excitability during mechanical ventilation. *J Appl Physiol* 2004;97(1):3–10. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01099.2003>.
- [60] Nitsche MA, Paulus W. Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. *J Physiol* 2000;527(Pt 3):633–9. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2000.t01-1-00633.x>.
- [61] Jeffery DT, Norton JA, Roy FD, Gorassini MA. Effects of transcranial direct current stimulation on the excitability of the leg motor cortex. *Exp Brain Res* 2007;182(2):281–7. <https://doi.org/10.1007/s00221-007-1093-y>.
- [62] Reis J, Fritsch B. Modulation of motor performance and motor learning by transcranial direct current stimulation. *Curr Opin Neurol* 2011;24(6):590–6. <https://doi.org/10.1097/WCO.0b013e32834c3db0>.
- [63] Mosayebi-Samani M, Jamil A, Salvador R, Ruffini G, Hauelsen J, Nitsche MA. The impact of individual electrical fields and anatomical factors on the neurophysiological outcomes of tDCS: a TMS-MEP and MRI study. *Brain Stimul* 2021;14(2):316–26. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2021.01.016>.
- [64] Wachter D, Wrede A, Schulz-Schaeffer W, et al. Transcranial direct current stimulation induces polarity-specific changes of cortical blood perfusion in the rat. *Exp Neurol* 2011;227(2):322–7. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2010.12.005>.
- [65] Bahr-Hosseini M, Bikson M. Neurovascular-modulation: a review of primary vascular responses to transcranial electrical stimulation as a mechanism of action. *Brain Stimul* 2021;14(4):837–47. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2021.04.015>.
- [66] Ferreira FL. Serial evaluation of the sofa score to predict outcome in critically ill patients. *JAMA* 2001;286(14):1754. <https://doi.org/10.1001/jama.286.14.1754>.
- [67] Pisani MA, Murphy TE, Araujo KLB, Van Ness PH. Factors associated with persistent delirium after intensive care unit admission in an older medical patient population. *J Crit Care* 2010;25(3):540.e1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jccr.2010.02.009>.
- [68] Bikson M, Grossman P, Thomas C, et al. Safety of transcranial direct current stimulation: evidence based update 2016. *Brain Stimul* 2016;9(5):641–61. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2016.06.004>.
- [69] Minhas P, Bansal V, Patel J, et al. Electrodes for high-definition transcutaneous DC stimulation for applications in drug delivery and electrotherapy, including tDCS. *J Neurosci Methods* 2010;190(2):188–97. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2010.05.007>.
- [70] Khadka N, Bikson M. Neurocapillary-modulation. *Neuromodulation* 2020 Dec 19. <https://doi.org/10.1111/ner.13338>.
- [71] Stagg CJ, Lin RL, Mezue M, Segerdahl A, Kong Y, Xie J, Tracey I. Widespread modulation of cerebral perfusion induced during and after transcranial direct current stimulation applied to the left dorsolateral prefrontal cortex. *J Neurosci* 2013 Jul 10;33(28):11425–31. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3887-12.2013>.
- [72] Dmochowski JP, Datta A, Bikson M, Su Y, Parra LC. Optimized multi-electrode stimulation increases focality and intensity at target. *J Neural Eng* 2011 Aug;8(4):046011. <https://doi.org/10.1088/1741-2560/8/4/046011>.

Author's Decision

Thank you for approving "A TRIADE CÉREBRO-CORAÇÃO-NUTRIÇÃO NO CONTEXTO DA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA: UMA REVISÃO INTEGRATIVA".

[View Reference Checking Results](#)
[Main Menu](#)

← Submissões sendo processadas para o autor ⓘ

Página: 1 de 1 (1 artigos no total)

Resultados por página 10 ▾

Ação	Número do manuscrito	Título	Data inicial de envio	Data de status	Status atual
Ver Envio Ver Resultados da Verificação de Referência Enviar E-mail	YMEHY-D-24-00585	A TRIADE CÉREBRO-CORAÇÃO-NUTRIÇÃO NO CONTEXTO DA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA: UMA REVISÃO INTEGRATIVA	12 de julho de 2024	12 de julho de 2024	Enviado para o periódico

Página: 1 de 1 (1 artigos no total)

Resultados por página 10 ▾